

Российская академия сельскохозяйственных наук
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР)

**Труды Всероссийского научно—
исследовательского института лекарствен-
ных и ароматических растений**

**ХИМИЯ,
ТЕХНОЛОГИЯ,
МЕДИЦИНА**

Москва 2000 г.

Раздел 1.
Растительные
биологически
активные
вещества и
фитопрепараты —
химия, технология и
стандартизация

БЫКОВ В.А., МИНЕЕВА М.Ф., НАЙМЫТЕНКО Е.П., КОЛХИР В.К.

ВИЛАР, Москва, Россия

НОВАЯ СХЕМА СКРИНИНГА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОХИМИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ ТЕСТОВ IN VITRO.

Биохимическое тестирование *in vitro* в качестве первого этапа скрининга биологически активных веществ (БАВ) применяется ведущими западными фармацевтическими фирмами много лет, так как позволяет, при адекватном выборе тест-объектов, повысить эффективность и экономичность направленного поиска искомой фармакологической активности. Каждая фирма имеет свою программу в соответствии со своими задачами. Особенно важен первичный биохимический скрининг для поиска БАВ в объектах растительного происхождения, так как извлечения из растений часто представляют собой не индивидуальные вещества, а группу веществ, принадлежащих к одному или нескольким химическим классам. И, вследствие этого, могут обладать широким спектром фармакологических свойств.

В СССР, в НИИ по БИХС, в 70-х годах была разработана и применена система скрининга БАВ с использованием биохимических тестов *in vitro* [1]. Однако данная система оказалась мало эффективной для скрининга и применялась более успешно для изучения механизма действия БАВ с установленными фармакологическими свойствами.

Предлагаемая нами программа первичного биохимического скрининга базируется на фундаментальных представлениях фармакологии и биохимии, прежде всего - на известных представлениях о специфических фармакофорах.[2,7]. Они представляют собой специфические элементы структуры фармакологически активных соединений, комплементарные структуре соответствующих мишеней (рецепторов), и определяют вид фармакологической активности или принадлежность к определенной фармакологической группе. Фармакофоры БАВ специфически, избирательно взаимодействуют с эндогенными мишенями, в качестве которых часто выступают лимитирующие ферменты, играющие ключевую роль в биохимических процессах, обеспечивающих соответствующие физиологические функции. Как правило, это аллостерические ферменты, имеющие сложную многофакторную регуляцию, в том числе - аллостерически регулируемые нейротрансммиттерами, гормонами, другими эндогенными факторами. Лимитирующие ферменты быстро реагируют на изменение внутренней среды изменением своей активности, что влечет за собой изменение скорости ансамбля биохимических реакций и приводит к изменению протекания соответствующих физиологических процессов. Для тирозингидроксилазы, триптофангидроксилазы, глутаматдекарбоксилазы было показано, что в кодировании некоторых аминокислотных последовательностей в белках упомянутых лимитирующих ферментов и соответствующих рецепторов участвуют общие гены [11], что обуславливает наличие одинаковых аминокис-

лотных последовательностей в белках рецепторов и соответствующих им лимитирующих ферментов. Одинаковые аминокислотные последовательности обеспечивают специфическое связывание одних и тех же лигандов. Так, продукт глутамат декарбоксилазной реакции, гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), служит агонистом ГАМК-рецепторов. Агонист дофаминовых рецепторов дофамин, образующийся при декарбоксилировании L-диоксифенилаланина (ДОФА), продукта розингидроксилазной реакции, является аллостерическим ингибитором тирозингидроксилазы. Антагонисты дофаминовых рецепторов - нейролептики - служат специфическими аллостерическими лигандами фермента, взаимодействующими со своим центром связывания [8].

Наличие одинаковых доменов (аминокислотных последовательностей) в молекулах рецепторов и соответствующих им лимитирующих ферментах позволяет использовать лимитирующие ферменты в качестве тест - объектов для поиска БАВ, мишенями которых служат соответствующие рецепторы. При этом использование кинетических параметров ферментативных реакций для оценки действия изучаемых веществ механизма позволяет получить более полную информацию, чем использование рецепторов в качестве тест-объектов.

Предлагаемая система биохимических ферментативных тестов состоит из блоков тестов, каждый из которых коррелирует с определенным видом фармакологической активности. Для направленного поиска или выявления целевой биологической активности используют соответствующий тест или блок тестов, коррелирующих с целевым видом фармакологической активности. Для характеристики спектра биологического действия изучаемого продукта, который может быть индивидуальным веществом или объектом сложного состава, применяют набор ферментативных тестов, позволяющих, в совокупности, охарактеризовать все известные виды фармакологического действия. Включение в скрининг на первом этапе специфических ферментативных тестов *in vitro* позволяет изменить схему скрининга в целом.

Отбор БАВ искомой направленности на этапе первичного биохимического скрининга позволяет проводить направленное фармакологическое изучение наиболее активных веществ, а затем, для отобранных на этом этапе скрининга объектов, проводить общепармакологическое исследование и, для наиболее перспективных, доклиническое изучение в соответствии с требованиями Государственного научного центра экспертизы лекарств МЗ РФ. На этапе доклинического изучения биохимические тесты, включенные в программу первичного скрининга, могут быть применены также при изучении механизма действия перспективных объектов на животных.

Особенно эффективно применение специфических биохимических тестов для поиска и создания новых лекарственных средств и пищевых добавок на основе растительного сы-

рья, в том числе - культур клеток растений. Известно, что состав и содержание биологически активных веществ в растениях изменчивы, зависят от многих факторов. Применение специфических биохимических тестов позволяет быстро и эффективно оценить качество сырья по искомой (целевой) биологической активности без определения химического состава [5].

Такая система скрининга применяется и развивается в ВИЛАРе в течение нескольких лет. Совместно НИЦ БМТ разработаны оригинальные специфические тесты для выявления антимикробной, адаптогенной, гепатопротекторной, иммуномодулирующей активности [6,2,3,10].

В качестве примера эффективности рассматриваемой программы приведем изучение биологической активности травы змееголовника с применением специфических ферментативных тестов *in vitro*. Змееголовник хорошо известен как ароматическое растение. В результате проведенного биохимического скрининга было установлено, что настой травы змееголовника, собранного в фазу бутонизации, оказывает активирующее влияние на фермент глутатионредуктазу *in vitro*. Ранее было доказано, что этот эффект коррелирует с адаптогенной фармакологической активностью [2]. Исходя из полученных результатов, провели направленное фармакологическое изучение настоя на животных. Настой змееголовника повышает физическую выносливость и работоспособность (рис.1), повышает устойчивость к перегреванию (рис.2), к гипоксии (рис.3). Антигипоксанта́ный эффект змееголовника сравним с эффектом бемитила, одного из сильнейших антигипоксантов. Все эти фармакологические эффекты, как известно, присущи адаптогенам. Таким образом, трава змееголовника может служить сырьем для разработки препаратов адаптогенной направленности. Активирующее влияние на глутатионредуктазу оказали экстракты корня атрактилодеса, копеечника забытого, девясила, колючника обыкновенного и вещества "хромидин". Эффекты атрактилодеса и копеечника забытого были сравнимы с эффектами бемитила [2].

С помощью НАДФН-оксидазного теста *in vitro* [10] был выявлен новый источник сырья для получения препаратов с иммуномодулирующей активностью, а именно - татарник колючий. Тирозингидроксилазный тест *in vitro* выявил специфическое сродство белково-пептидных препаратов из омелы белой (Р-07) и пшеницы (ПО-5) к ферменту тирозингидроусилазе, являющемуся неотъемлемой составной частью дофаминовой нейромедиаторной системы. Эти результаты послужили основанием для изучения психотропной, в том числе - стресспротективной активности Р-07 и ПО-5. Направленное изучение этих препаратов на животных позволило установить их мнотропную, анксиолитическую, стресспротективную активность и классифицировать Р-07 и ПО-5 как избирательные анксиолитики [4].

Сопоставление экономичности первичного скрининга, проводимого на разных уровнях - целого организма, изолированного органа, культуры клеток, ферментов *in vitro*

на примере первичного скрининга адаптогенов показало, что стоимость первичного биохимического тестирования с применением в качестве тест-объектов ферментов глутатионредуктазы, супероксиддисмутазы, каталазы, ниже стоимости первичного скрининга на животных, изолированных органах, культурах клеток.

Кроме того, предлагаемые ферментативные тесты *in vitro* превосходят другие способы первичного скрининга по информативности и скорости выполнения. Тестирование с применением ферментативных тест-систем позволяет также ориентироваться в выборе доз для системного введения, определить “перелом” эффекта с повышением дозы.

Разработка и совершенствование новой системы скрининга расширяют возможности ВИЛАР в создании новых эффективных лекарственных препаратов природного происхождения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баренбойм Г.М., Маленков А.Г. Биологически активные вещества: Новые принципы поиска. М., 1986. 363 С.
2. Быков В.А., Минеева М.Ф., Дубинская В.А. и др. Первичный биохимический скрининг веществ с адаптогенной активностью. //Биомедицинские технологии. М., 1997. Вып.7. С 5 13.
3. Быков В.А., Минеева М.Ф., Колхир В.К. и др. Моноксигеназная система цитохрома Р450 как тест-система для скрининга БАВ *in vitro*. //Биомедицинские технологии. М., 1999. Вып.11. С.50-55.
4. Быков В.А., Минеева М.Ф., Стрелкова Л.Б. и др. Поиск адаптогенов среди пептидов растительного происхождения.//V Нац. Конгресс “ Человек и лекарство”. Тезисы докладов. М., 1998 С.353-354.
5. Дубинская В.А., Александрова И.В., Чернышов Р.В. и др. Первичная оценка культур клеток растений как продуцентов БАВ по их биологической активности. // Биомедицинские технологии. М.,1999. Вып.11. С. 56-61.
6. Дубинская В.А.,Минеева М.Ф., Крутикова Н.М. и др. Антиоксидантные ферменты - возможные мишени антимикробных и противовирусных средств. // IV Нац.Конгресс “Человек и лекарство”. Тезисы докладов. М., 1997. С.43.
7. Минеева М.Ф. Первичный биохимический скрининг фармакологически активных веществ из лекарственных растений. // II Нац. Конгресс “Человек и лекарство”. Тезисы докладов. М.,1995. С.299-300.

8. Минеева М.Ф. Нейролептики - аллостерические регуляторы тирозингидроксилазы. // Молекулярные механизмы действия психотропных препаратов. М., ВИНТИ. 1987. С. 170-228.
9. Минеева М.Ф., Колхир В.К., Быков В.А. Программа скрининга биологически активных веществ растительного происхождения . // Фундаментальные исследования как основа создания лекарственных средств. Сб.тезисов 1 съезда РНО фармакологов, Волгоград, 1995. М., 1995. С.281.
10. Попова Н.Б., Стихин В.А., Минеева М.Ф., Быков В.А. Применение ферментативной НАДФ-Н оксидазной системы in vitro для первичного скрининга активаторов фагоцитоза. // Биомедицинские технологии. М., 1999. Вып. 11. С.62-65.
11. Tong Joh H/, Baetge .E.E., Ross E., et al. // Fed. Proc.1985. -Vol. 44. - P. 2273-2279.

Mineeva M.F., Kolchir V.K., Bykov V.A.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

New sceme for screening of biologically active substances with using tnzymatic tests in vitro

The new sceme for more effective screening of biologikally active substances includes spesifical enzymatic tests in vitro where as test - objects are used key enzymes taking important part in providing definite physiological processes and serving targets for pharmaceuticals. VILAR possesses original enzymatic tests for primary biochemical screening in vitro of adaptogenes, stress-protectors, hepatoprotectors, immunomodulators, antimicrobic and antiviral fctivity, which were elaborated in VILAR together with the Center of biomedical technologies . As example for effectivity the new screening sceme finding of adaptogenous properties in *Dracocephalum* are shown.

ЛАПА Г.Б. , ЛОБАНОВА Т.Н., ШЕЙЧЕНКО В.И., ТОЛКАЧЕВ О.Н.

ВИЛАР, Москва, Россия

**ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ БИСИНДОЛЬНЫХ АЛКАЛОИДОВ
*CATHARANTHUS ROSEUS L.***

Проводившиеся в течение длительного времени в лаборатории алкалоидов института систематические исследования научных и технологических аспектов производства бисиндольных алкалоидов успешно завершилась в начале 90-х годов разработкой технологии и документации на производство трех основных бисиндольных алкалоидов *C. roseus*, представляющих интерес в фармакотерапии опухолей. С участием сотрудников лаборатории ал-

калоидов на производственно-экспериментальном заводе ВИЛАР был произведен выпуск различных партий субстанций «Розевина» (винбластин сульфата) и «Амотина» (лейрозина сульфата) для проведения клинических испытаний в Российском онкологическом научном центре РАМН и серийного выпуска препарата Розевина. Клинические испытания Розевина и Амотина проведены в РОНЦ. Субстанция винкристина сульфата и его лекарственная форма на его основе, разработанная совместно с Российским онкологическим научным центром РАМН, были наработаны в лабораторных масштабах [1-2]. Производство лиофилизированной лекарственной формы Розевина освоено заводом «Санитас» (Каунас).

Алкалоиды винбластин (VLB), винкристин (VCR), а также ряд полусинтетических производных на их основе производятся ведущими фармацевтическими компаниями развитых стран [3-4]. Безопасность и эффективность лекарственных форм на основе субстанций этих алкалоидов широко известны, поэтому основное направление выбранное лабораторией алкалоидов - это разработка патентно чистых способов производства субстанций.

На рис. 1 приведена принципиальная общая схема получения к производству этих алкалоидов.

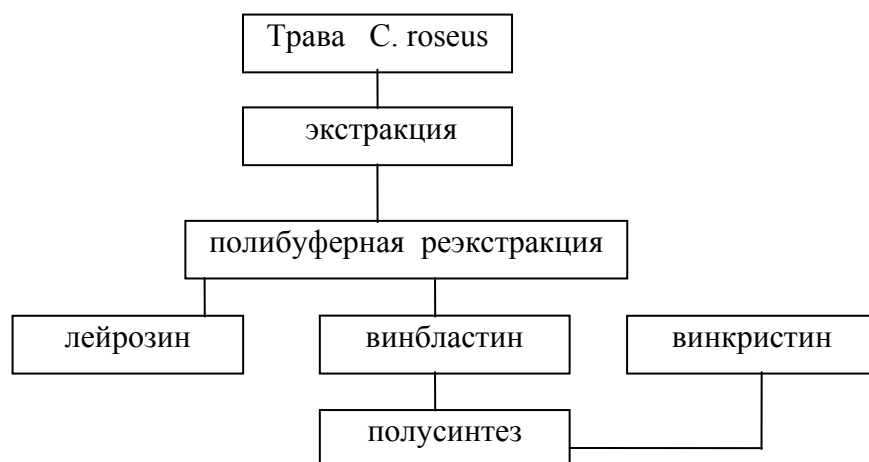


Рис. 1. Принципиальная схема получения алкалоидов *Catharanthus roseus*

При разработке технологии полусинтетического получения винкристина при низкотемпературном окислении винбластина водными растворами бихроматов мы столкнулись с образованием побочных продуктов. Основными побочными продуктами являлись дезформил-винкристин (DFVCR) и N^{6'}-оксид-винкристина (N^{6'}-oxyde-VCR), структура которых подтверждена спектральными методами (ЯМР и масс-спектрометрия) (см. рис. 2).

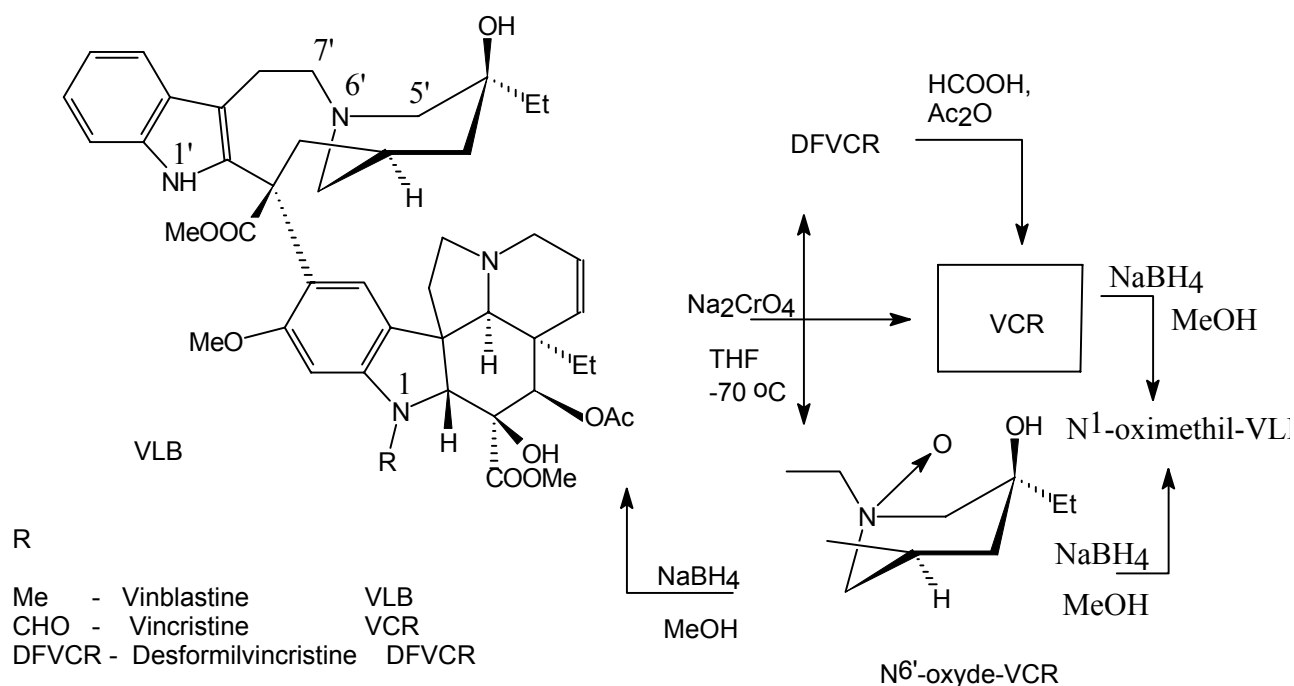


Рис. 2. Схема превращений винбластина при получении винкристина

Две основные примеси были идентифицированы хроматографически сравнением с продуктами превращения образцов веществ в известные алкалоиды, а также методами спектроскопии ЯМР и масс-спектрометрии. Так, дополнительное формилирование реакционных смесей, содержащих, по данным ВЭЖХ более 10 % DFVCR, смесью Ac_2O и HCOOH в мягких условиях [5], приводило к увеличению выхода целевого винкристина до 85-90%. Хотя ($\text{N}^{6'}$ -oxyde-VCR) в продуктах реакции окисления содержится в среднем не более 5-10%, представляется реальным разработать процедуру мягкого окисления N^1 -оксиметил-винбластина в винкрестин при крупномасштабном производстве.

Для полной характеристики ($\text{N}^{6'}$ -oxyde-VCR) был выделен из реакционной смеси и очищен колоночной хроматографией до 78% по данным ВЭЖХ. Приведенный ниже фрагмент спектра ^{13}C -ЯМР однозначно свидетельствует об окисленном характере заместителя у N^1 (см. табл. 1). Наличие в масс-спектре (FAB) ($\text{N}^{6'}$ -oxyde-VCR) молекулярного пика $\text{M}^+=840$ предполагает структуру соединения, содержащего фрагмент N-окиси третичного атома азота в клеваминовой части алкалоида.

Конформация молекулы винкристина-N-оксида рассчитана методом молекулярной динамики по программе MM2 (ChemOffice 2000). На рисунке 3 показана молекулярная модель винкристина-N-оксида в стереоскопическом изображении (cross view). Минимальная потенциальная энергия молекулы (в вакууме) $\Sigma E=132,57$ ккал/моль.

Фрагменты ^{13}C ЯМР спектров бисиндольных алкалоидов *Catharanthus roseus*

№ атома	VLB	VLR	VCR	N ⁶ -oxide-VCR
C ^{7'}	55,50	49,60	57,28	53,09
C ^{5'}	63,10	54,00	58,34	54,00
N-Me	38,00	38,20	-	-
N-CHO	-	-	163,16	165,36

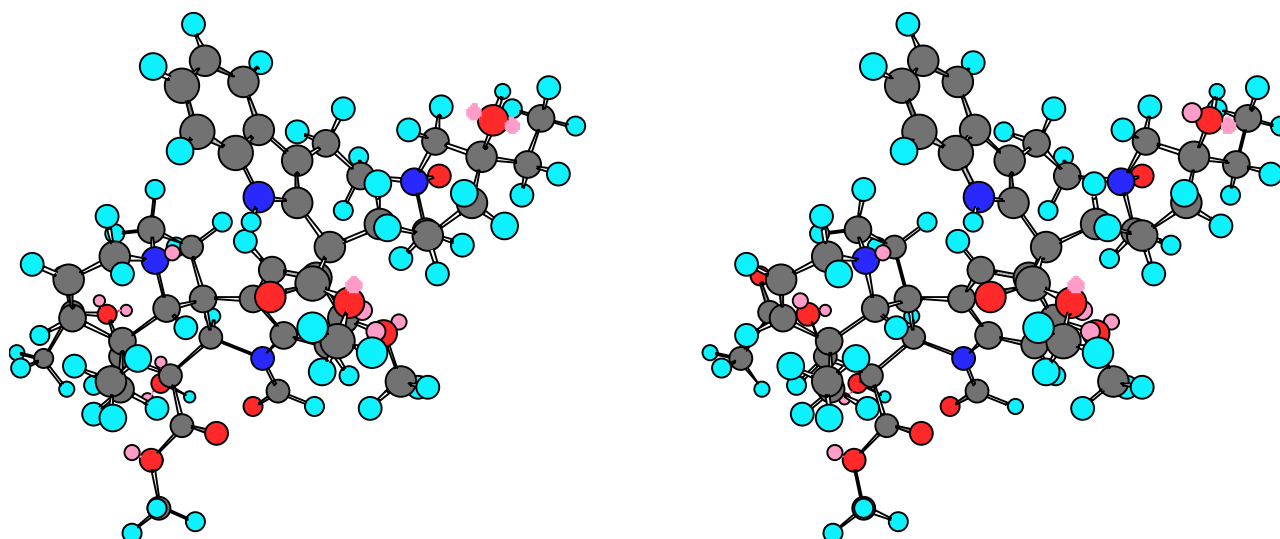


Рис. 3. Компьютерная модель молекулы винкристина N-оксида в стереоскопическом изображении (cross view)

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Лабораторный регламент на производство винкристина сульфата. ВИЛАР, Москва, 1993.
- 2 Tolkachev O.N., Lobanova T.A., Lapa G.B., Sheichenko V.I., Syrkin A.B. A study of catharanthus roseus alkaloids and their derivatives. 9-th NCI-EORTC symposium on new drug in cancer therapy. March 12-15, 1996. Amsterdam, The Netherlands. abstr. # 393, P. 111.
- 3 Suffness M., Cordell G.A. Antitumor alkaloids. In: The Alkaloids. Chemistry and Pharmacology. Ed. By Brossi A., - Academic press, N.Y.,L. - 1985 - Vol. XXV.
- 4 The Catharanthus Alkaloids. Botany, Chemistry, Pharmacology, and clinical Use. Ed. By Taylor W.I., Farnsworth N.R. - Marcel. Deckker Ink., N.Y. - 1975
- 5 Conrad R.A. Method of preparing 1-formyl congeners of indole-dihydroindole dimers. EP 79785 Cl C07D519/04 B1 09.09.81 Eli Lilly & Co.

Lapa G.B., Lobanova T.N., Sheichenko V.I., Tolkachev O.N.,

BISINDOL ALKALOIDS OF *CATHARANTHUS ROSEUS* STUDY

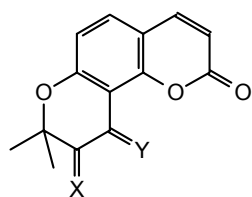
Isolation of bisindol alkaloids from *Catharanthus roseus* leaves (VLB, VLR and VCR), a study of their transformation on storage and during semi-synthesis of VCR from VLB are discussed.

СКЛЯР Ю.Е., РОДИОНОВА Н..В.

ВИЛАР, Москва, Россия

МОДИФИКАЦИЯ ПРИРОДНЫХ КУМАРИНОВ. СИНТЕЗ НОВЫХ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ СИСТЕМ

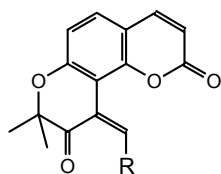
Введение азотсодержащих заместителей в молекулу дигидропиранокумарина [1] привело к появлению новой активности—нейротропной. В связи с этим большой интерес представляло получение производных дигидропиранокумарина, конденсированных с азотистыми гетероциклами. В качестве синтона был использован 3'-кето-3',4'-дигидросеселин (I), образующийся при гидролизе диэфиров келлактона серной кислотой [2]; он может быть также получен из отходов производства спазмолитического препарата фловурин.



I, X=O, Y=H₂

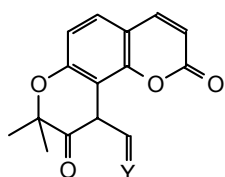
II, X=O, Y=NOH

III, X=NNHC₆H₅, Y=H₂



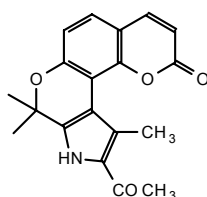
VIII, R=CHOH

IX, R=OC₂H₅

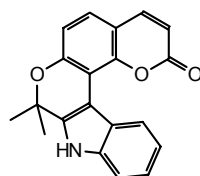


X, R=NOH

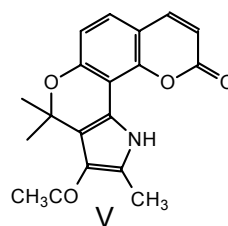
XI, R=NNH₂



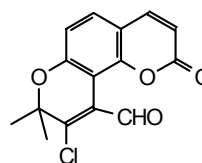
IV



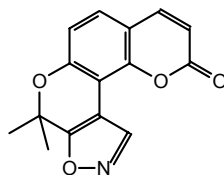
VI



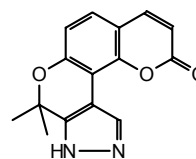
V



VII



XII



XIII

Реакцией кетона I с изонитрозоацетилацетоном при восстановлении цинком в уксусной кислоте по Кнорру было получено тетрациклическое производное IV, а взаимодействием изонитрозокетона II с ацетилацетоном—производное пиррола V. Фенилгидразон III под действием кислоты превращался по реакции Фишера в производное индола VI.

Подходящим синтоном для получения полициклических соединений, содержащих азотистое пятичленное кольцо, могло оказаться вещество VIII, однако реакция 1 с диметилформамидом и хлорокисью по Вильсмейеру дала хлоральдегид VII. Аналогичный VIII синтон IX был получен из I реакцией с триэтилортоформиатом под действием уксусного ангидрида. С гидроксиламином IX образует оксим X, дегидратацией которого получается производное изоксазола XII. Аналогичная реакция IX с гидразингидратом дает гидразон XI, циклизацией которого получено производное пиразола XIII.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Данные элементного анализа соответствуют вычисленным. Индивидуальность полученных веществ показана ТСХ на силуфол в системе петролейный эфир - этилацетат (1:1). Спектры ПМР, снятые в CDCl_3 на спектрометре Gemini 200 (Вариан, США), соответствуют приведенным структурам.

3'-Кето-3',4'-дигидросеселин(I), $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_4$, т.пл. 157-158°, получен из дигидросамидина с выходом 52%.

3'-Кето-4'-оксимино-3',4'-дигидросеселин(II), $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{NO}_5$, т.пл. 223-224°, получен по описанной методике[2].

Фенилгидразон 3'-кето-3',4'-дигидросеселина(III), $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$, т.пл. 193-194°, получен из I с выходом 85%.

2-Оксо-8,8,11-триметил-10-ацетил-2Н-пирроло[2,3-с]пирано[2,3-f]хроман(IV), $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_4$, т.пл. 243°, из I и изонитрозоацетилацетона в уксусной кислоте при восстановлении цинковой пылью.

2-Оксо-8,8,10-триметил-9-ацетил-2Н-пирроло[3,2-с]пирано[2,3-f]хроман(V), $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_4$, т.пл. 228°, из II и ацетилацетона в уксусной кислоте при восстановлении цинковой пылью с выходом 40,0%.

2-Оксо-8,8-диметил-2Н-индоло[2,3-с]пирано[2,3-f]хроман(VI), $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{NO}_3$, т.пл. 209-210°, нагреванием III с соляной кислотой с выходом 81,2%.

3'-Хлор-4'-формилсеселин(VII), $C_{15}H_{11}ClO_4$, т.пл. 140-142°, получают обработкой раствора I в диметилформамиде избытком хлорокиси фосфора и последующим гидролизом с выходом 84,9%.

3'-Кето-4'-этоксиметилен-3',4'-дигидросеселин(IX), $C_{17}H_{16}O_5$, т.пл. 208-209°, получают из I и ортомуравьиного эфира нагреванием в уксусном ангидриде с выходом 76,6%.

3'-Кето-4'-оксиминометил-3',4'-дигидросеселин(X), $C_{15}H_{13}NO_5$, т.пл. 185°, получают из VII и гидроксилamina обычным способом с выходом 68,2%.

3'-Кето-4'-гидразометил-3',4'-дигидросеселин(XI), $C_{15}H_{13}N_2O_4 \cdot 2H_2O$, т.пл. 253°, получают из VII и гидразингидрата обычным способом с выходом 71,9%.

2-Оксо-8,8-диметил-2Н-изоксазоло[5,4-с]пирано[2,3-f]хроман(XII), $C_{15}H_{11}NO_4$, т.пл. 190-191°, получают дегидратацией IX уксусным ангидридом с выходом 73,7%.

2-Оксо-8,8-диметил-2Н-пиразоло[5,4-с]пирано[2,3-f]хроман(XIII), $C_{15}H_{12}N_2O_3$, т.пл. 255-257°, получают из X нагреванием в ДМСО в присутствии п-толуолсульфокислоты с выходом 86,6%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Скляр Ю.Е., Родионова Н.В.(1980), Химия природн.соед., N4, стр. 488 - 489. Модификация природных кумаринов. Реакция эфиров келлактона с аминами.
2. Mustafa A., Starkovsky N.A., Salama T.I.(1961), J. Organic Chem., Vol. 26, pp. 890 - 893. Experiments with chromeno- α -pyrone. Reactions of provismine(visnadine).

SKLYAR YU. E., RODIONOVA N. V.

VILAR, Moscow, Russia

MODIFICATION OF NATURAL COUMARINS. SYNTHESIS OF NEW POLYCYCLIC SYSTEMS

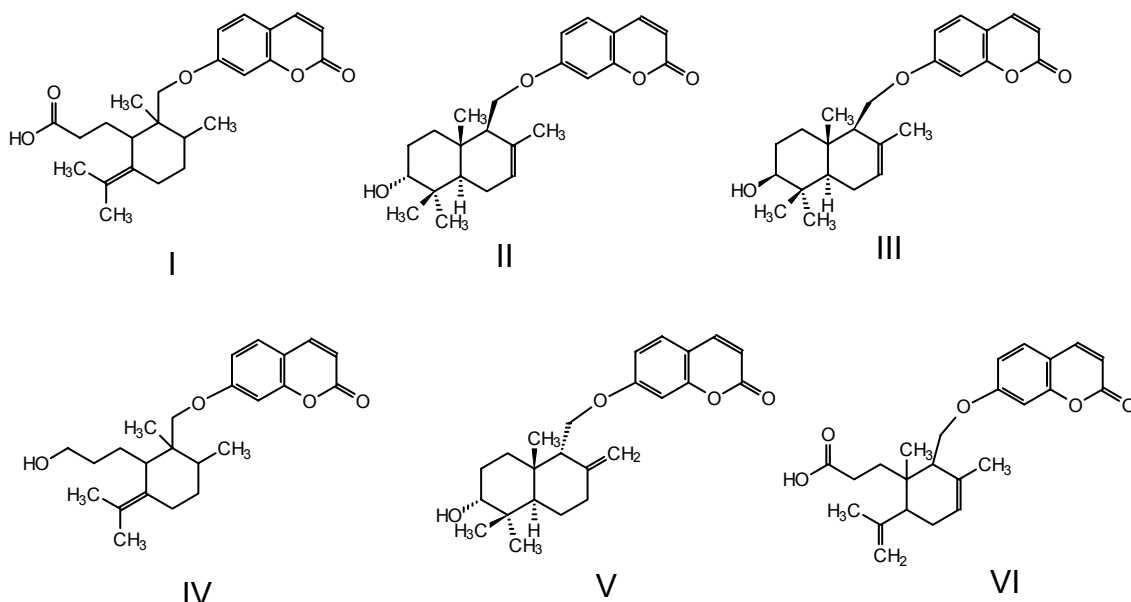
Tetra- and pentacyclic systems were synthesized from 3'-oxo-3',4'-dihydroseselin.

СКЛЯР Ю.Е., ВЕСЕЛОВСКАЯ Н.В., КИРЬЯНОВА И.А., БЕЛОВА Л.Ф., СОКОЛОВ С.Я.

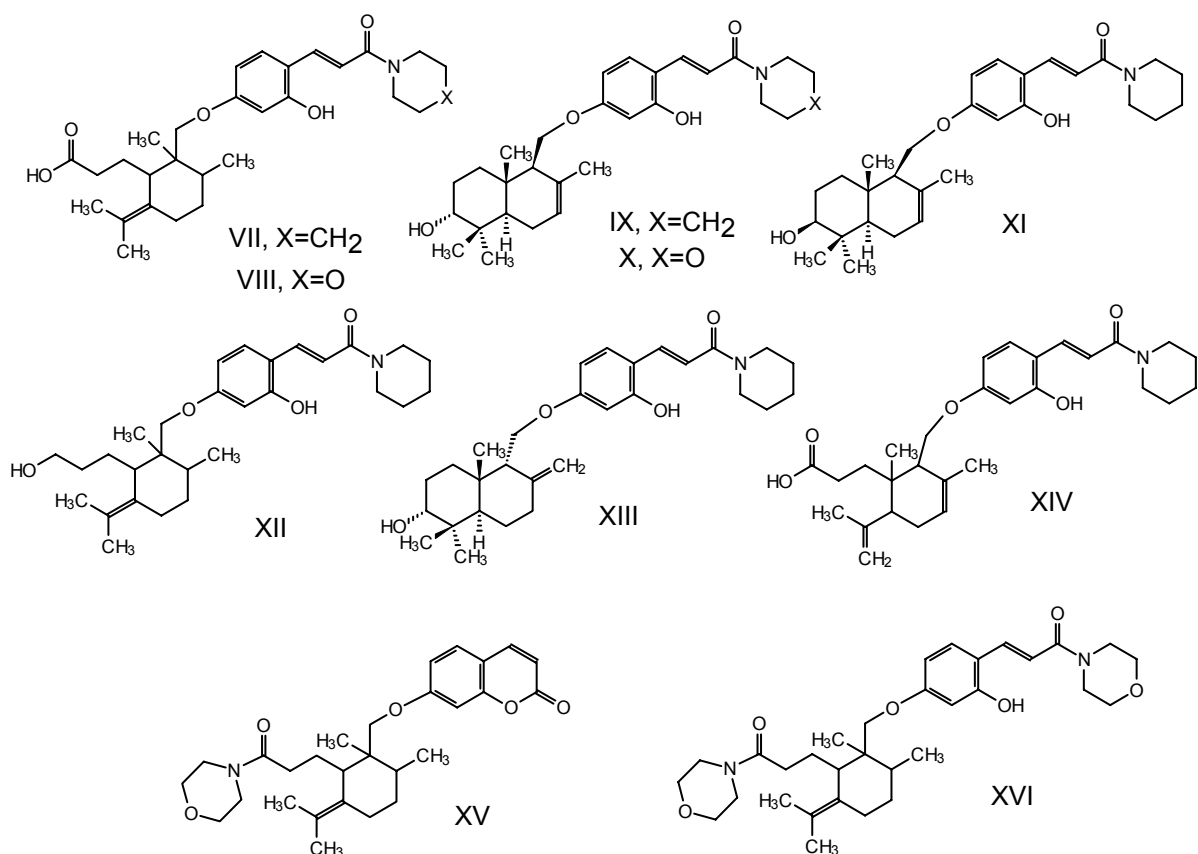
ВИЛАР, Москва, Россия

МОДИФИКАЦИЯ ТЕРПЕНОИДНЫХ КУМАРИНОВ. ПОЛУЧЕНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЗАМЕЩЕННЫХ АМИДОВ КОРИЧНЫХ КИСЛОТ, СОДЕРЖАЩИХ СЕСКВИТЕРПЕНОВЫЙ ОСТАТОК

Смола и экстракты ферул широко использовались в народной медицине стран Центральной Азии для лечения самых различных заболеваний—простудных, кожных, опорно-двигательного аппарата, при геморрое, радикулите, головных болях, злокачественных опухолях, болезнях крови и др. Известно, что экстракты ферул обладают антимикробным, противовоспалительным, эстрогенным, антикоагулянтным действием. В ходе систематического изучения химического состава ферул Средней Азии мы выделили ряд терпеноидных кумаринов, как новых, так и уже известных ранее. Эти соединения уже сами по себе обладают некоторым спазмолитическим действием. Модификация этих веществ, в частности путем получения из них амидов оксикоричных кислот, могла привести к более перспективным в терапевтическом плане препаратам. Для работы были выбраны гальбановая кислота (I)[1], конферол (II)[2,3,4], мосхатол (III)[4,5,6], фекринол (IV)[7], гуммозин (V)[8,9] и каратавиновая кислота (VI)[10], выделенные нами из различных видов ферул.



Нагреванием этих терпеноидных кумаринов с пиперидином или морфолином были получены гальбанамиды П (VII) и М (VIII), конферол-пиперидид (IX) и конферол-морфолид (X), мосхатол-пиперидид (XI), фекриноламид (XII), гуммозамид (XIII) и караамид (XIV). Реакция гальбановой кислоты с морфолином под действием дициклогексилкарбодиимида дает морфолид гальбановой кислоты (XV), дальнейшее взаимодействие которого с морфолином приводит к гальбанилдиморфолиду (XVI). Структура полученных соединений подтверждена данными ПМР-, УФ- и ИК-спектроскопии.



Изучение токсичности веществ проводилось по методу В.Б. Прозоровского и со-авторов на мышах массой 18-20 г при внутрибрюшинном введении. В качестве эталона сравнения использовался папаверин, спазмолитик, широко применяемый в медицинской практике. Все новые соединения менее токсичны, чем папаверин : караамид в 4,75 раза, фекриноламид - в 5,47, гуммозамид - в 4,36, конферол-морфолид - в 5,47, конферол-пиперидид - в 8,61, гальбанилдиморфолид - в 7,53, гальбанамид II - в 7,34, гальбанамид М - в 5,97, мосхатол-пиперидид - в 9,46.

Спазмолитическое действие соединений изучалось по методу Магнуса на гладкой мускулатуре изолированного отрезка тонкой кишки крысы. В качестве спазмогенных агентов использовали ацетилхолин ($1 \cdot 10^{-6}$ г/мл) и хлорид бария ($1 \cdot 10^{-4}$ г/мл). Опыты проводились на специальной установке фирмы Ugo Basile (Италия) для работы с изолированными органами. Вещества испытывали в концентрациях $1 \cdot 10^{-6}$, $0,2 \cdot 10^{-5}$ и $1 \cdot 10^{-5}$ г/мл. При этом с каждой концентрацией ставили по 5—10 опытов на кишке трех разных животных. Полученные данные показывают, что производные амидов транс-коричной кислоты обладают спазмолитическим действием как на фоне миотропного (хлорид бария), так и нейротропного (ацетилхолин) спазмогенных анализаторов. При этом караамид, конферол-морфолид (при бариевом и ацетилхолиновом спазмах) и фекриноламид (при ацетилхолиновом спазме) превосходят по активности папаверин.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2-Гидрокси-4-[1',2'-диметил-4'-изопропилиден-3'-(2-карбоксиэтил)циклогексил-2'-метилокси]-транс-коричной кислоты пиперидид (гальбанамид П)(VII). 1,0 г гальбановой кислоты(I) в 3 мл пиперидина нагревают 3 часа при 100°C, охлаждают до 20°C, прибавляют 10 мл 1%-ного раствора соляной кислоты, выпавший осадок отделяют, сушат. Выход VII, $C_{29}H_{41}NO_5$, 1,0 г, т.пл. 121-123°C.

2-Гидрокси-4-[1',2'-диметил-4'-изопропилиден-3'-(2-карбоксиэтил)циклогексил-2'-метилокси]-транс-коричной кислоты морфолид (гальбанамид М)(VIII). 1,0 г гальбановой кислоты и 3 мл морфолина обрабатывают так же, как описано выше, получают 1,0 г VIII, $C_{28}H_{39}NO_6$, т.пл. 118-120°C.

2-Гидрокси-4-(6'α-гидрокси-1',5',5',9'β-тетраметил-транс-1'4',5',6',7',8',9',10'β-октагидронафталин-1'-ил-β-метилокси)-транс-коричной кислоты пиперидид (конферол-пиперидид) (IX) получают аналогично из 1 г конферола и 3 мл пиперидина. Выход IX, $C_{29}H_{41}NO_4$, 1,3 г. После хроматографической очистки и кристаллизации из этилацетата и петролейного эфира т.пл. 205-207°.

2-Гидрокси-4-(6'α-гидрокси-1',5',5',9'β-тетраметил-транс-1'4',5',6',7',8',9',10'β-октагидронафталин-1'-ил-β-метилокси)-транс-коричной кислоты морфолид (конферол-морфолид) (X) получают аналогично IX. Выход X, $C_{28}H_{39}NO_5$, 0,6 г, т.пл. 210-212° после хроматографической очистки.

2-Гидрокси-4-(6'β-гидрокси-1',5',5',9'β-тетраметил-транс-1'4',5',6',7',8',9',10'β-октагидронафталин-1'-ил-β-метилокси)-транс-коричной кислоты пиперидид (мосхатол-пиперидид) (XI) получают аналогично из 1 г мосхатола. Выход XI, $C_{29}H_{41}NO_4$, 0,8 г, после хроматографической очистки т.пл. 123-125°.

2-Гидрокси-4-[1',2'-диметил-4'-изопропилиден-3'-(3-гидроксипропил)циклогексил-2'-метилокси]-транс-коричной кислоты пиперидид (фекриноланид) (XII). 400 мг фекринола и 1,5 мл пиперидина нагревают при 120-130°C 1 час, охлаждают до 20°C, прибавляют 15 мл воды, нейтрализуют 5%-ной соляной кислотой, осадок отделяют, промывают водой, сушат. Получают 0,45 г XII, $C_{29}H_{43}NO_4$, т.пл. 118-120°C.

2-Гидрокси-4-(6'α-гидрокси-2-метил-5',5',9'β-триметил-транс-1',2',3',4',5',6',7',8',9',10'α-декагидронафталин-1'-ил-α-метилокси)-транс-коричной ки-

слоты пиперидид (гуммозамид) (XIII) получают из 200 мг гуммозина и 1 мл пиперидина. Выход XIII, $C_{29}H_{41}NO_4$, 230 мг, т.пл. 157-159°C.

2-Гидрокси-4-[1',3'-диметил-4'-изопропенил-3'-(2-карбоксиэтил)циклогексил-2'-метилокси]-транс-коричной кислоты пиперидид (караамид) (XIV). Получают аналогично из 2,3 г каратавиковой кислоты и 3 мл пиперидина. Выход XIV, $C_{29}H_{39}NO_5$, 2,5 г, т.пл. 118-120°C.

Морфолид гальбановой кислоты (XV). 5 г гальбановой кислоты, 3 мл морфолина и 4,5 г дициклогексилкарбодиимида в 40 мл хлористого метилена выдерживают при 20°C 17 часов, выпавший осадок отделяют, фильтрат упаривают, растворяют в 20 мл этилацетата, фильтруют, промывают 1н. раствором соляной кислоты (3x10 мл), водой (3x10 мл), сушат безводным сульфатом натрия, упаривают. Остаток кристаллизуют из 20 мл 30%-ного раствора этилацетата в петролейном эфире. Выход XV, $C_{28}H_{37}NO_5$, 4,3 г, т.пл. 139-141°C.

2-Гидрокси-4-[1',2'-диметил-4'-изопропилиден-3'-(2-N-морфолинокарбонилэтил)-циклогексил-2'-метилокси]-транс-коричной кислоты морфолид(гальбанилдиморфолид) (XVI). 1 г морфолида гальбановой кислоты и 3 мл морфолина нагревают 2 часа при 120°C, охлаждают до 20°C, прибавляют 10 мл 1%-ного раствора соляной кислоты, выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой (3x5 мл) и сушат, получают 1,2 г XVI, $C_{32}H_{46}N_2O_6$, т.пл. 130-133°C.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кирьянова И.А., Скляр Ю.Е., Пименов М.Г., Баранова Ю.В., (1979), Химия природн. соедин., №4, стр. 573-574. Терпеноидные кумарины *Ferula violacea* и *Ferula eugenii*
2. Вандышев В.В., Скляр Ю.Е., Перельсон М.Е., Мороз М.Д., Пименов М.Г., (1972), Химия природн. соедин., №6, стр. 670-671. Конферол - новый кумарин из корней *Ferula conocaula* и *F. moschata*.
3. Вандышев В.В., Скляр Ю.Е., Веселовская Н.В., Пименов М.Г., (1975), Химия природн. соедин., №3, стр. 420-421. Кумарины корней *Ferula foetidissima*.
4. Веселовская Н.В., Скляр Ю.Е., Пименов М.Г., (1979), Химия природн. соедин., №4, стр. 574-575. Терпеноидные кумарины *Ferula iliensis*.
5. Скляр Ю.Е., Перельсон М.Е., Пименов М.Г., (1973), Химия природн. соедин., №3, стр. 428-429. Мосхатол - новый кумарин из корней *Ferula moschata*.

6. Кирьянова И.А., Скляр Ю.Е., Пименов М.Г., Баранова Ю.В., (1982), Химия природн. соед., №4, стр. 519. Терпеноидные кумарины *Ferula foetidissima* и *F. inciso-serrata*.
7. Веселовская Н.В., Скляр Ю.Е., Савина А.А., (1981), Химия природн. соед., №6, стр. 798-799. Фекринол и его ацетат из *Ferula krylovii*.
8. Савина А.А., Скляр Ю.Е., Пименов М.Г., (1980), Химия природн. соед., стр. 121. Стереоизомеры фарнезиферола А в корнях *Ferula linczevskii*.
9. Скляр Ю.Е., Пименов М.Г., Дрожжина Л.Б., (1982), Химия природн. соед., №6, стр. 778-779. Терпеноидные кумарины *Ferula kokanica*.
10. Веселовская Н.В., Скляр Ю.Е., Пименов М.Г., (1982), Химия природн. соед., №3, стр. 397-398. Терпеноидные кумарины *Ferula aitchisonii*.

SKLYAR YU.E., VESELOVSKAYA N.V., KIR'YANOVA I.A., BELOVA L.F., SOKOLOV S.YA.

MODIFICATION OF TERPENOID COUMARINS. SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF SESQUITERPENE DERIVATIVES OF CINNAMIC AMIDES

Cinnamic amides derivatives were obtained by reaction of terpenoid coumarins with piperidine and morpholine.

СКЛЯР Ю.Е., СОКОЛОВА А.И., ВАНДЫШЕВ В.В., КРИВУТ Б.А.

ВИЛАР, Москва, Россия

ПОЛУЧЕНИЕ СУММЫ ДИГИДРОСАМИДИНА И ВИСНАДИНА ИЗ КОРНЕЙ ВЗДУТОПЛОДНИКА СИБИРСКОГО

В процессе работы с препаратом фловерин, представляющим собой природную сумму дигидросамидина (I) и виснадина (II), содержащуюся в корнях вздутоплодника сибирского, мы столкнулись с необходимостью разработки рационального метода ее выделения. I и II впервые были выделены из амми зубной (*Ammi visnaga* L.) [1], а впоследствии - из растений рода вздутоплодник (*Phlojodicarpus villosus* Turcz. и *Phlojodicarpus sibiricus* (Steph.) K.-Pol.) [2,3]. Естественно, это были лабораторные методы, которыми выделялись незначительные количества веществ. Рациональный препаративный метод выделения этих соединений до сих пор не используется и в литературе не описан, что, по-видимому, частично объясняет причину, по которой препарат фловерин, разрешенный для использования в медицинской практике до настоящего

времени, в последние годы не производится. Препарат на основе виснадина - кардубен S(вибелин, провизмин), применяемый для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, выпускается в течение 30 лет и нашел свою нишу в современной терапии. По нашим данным, кардубен содержит примерно 20% дигидросамидина, в то время как фловерин состоит из этих двух компонентов приблизительно в равных соотношениях. Оба вещества обладают одинаковым спазмолитическим действием и другими фармакологическими свойствами, хотя показания для их клинического применения несколько различаются [4].

Для выделения этих веществ были использованы их липофильные свойства - хорошая растворимость в малополярных растворителях. Был разработан метод [5], включающий экстракцию сырья четыреххлористым углеродом и последующей очисткой с помощью окиси алюминия. При этом основная масса полярных веществ не экстрагируется неполярным растворителем, а относительно небольшое количество примесей адсорбируется Al_2O_3 . Дальнейшее усовершенствование этого метода позволило разработать рациональный препаративный метод, пригодный для промышленного производства фловерина. Образцы препарата, полученного по описанному здесь методу с выходом порядка 60%, содержали около 100% основного вещества и были использованы в качестве стандартов при разработке нормативно-технической документации.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для получения препарата использовали измельченные корни вздутоплодника сибирского с содержанием суммы дигидросамидина и виснадина 3,85% и содержанием влаги 7,5%, четыреххлористый углерод по ГОСТ 5827-68, ч, и эфир петролейный по ГОСТ 11992-66, ч, т. кип. 70—100°. Анализ сырья и субстанции проводился по разработанному Б.А. Кривутом методу, использованному в фармакопейных статьях, регламентирующих их качество. Количественное определение проводилось при длине волны 322 нм, $E_{1\text{см}}^{1\%}=370$.

Выделение суммы дигидросамидина и виснадина. 1 кг измельченных корней вздутоплодника экстрагируют 6 л четыреххлористого углерода при 20° в течение 24 часов при периодическом перемешивании. Экстракцию повторяют дважды (по 4 л CCl_4), объединенный экстракт упаривают, полученный остаток (140—160 г) растворяют в 100 мл смеси CCl_4 и петролейного эфира (1:1), и выдерживают в холодильнике при +5° 24 часа. Выпавший осадок отделяют, промывают 50 мл той же смеси рас-

творителей и сушат, получают 35—43 г технической суммы кумаринов с содержанием I и II 70—90%. Технический продукт растворяют в 10-кратном количестве CCl_4 и фильтруют через 4-кратное количество нейтральной окиси алюминия II ст. акт. (слой диаметром 13 см), промывая окись дополнительно 540 мл CCl_4 . Объединенный элюат (~850 мл) упаривают до объема 100 мл, к горячему остатку прибавляют 100 мл петролейного эфира. Оставляют в холодильнике при $+5^\circ$ на 20 часов, выпавший осадок отделяют, промывают петролейным эфиром и сушат. Выход 21—26 г (51,5—63,6%), содержание основного вещества 98—102%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Smith E., Hosansky N., Bywater W.G., van Tamelen E.E., J. Amer. Chem. Soc., (1957), Vol. 79, 3534, Constitution of samidin, dihydrosamidin and visnadin.
2. Бабилев Ф.В., Никонов Г.К., (1965), Хим. природн. соед., №5, стр. 353-355. Кумарины корней *Phlojodicarpus villosus Turcz.*
3. Никонов Г.К., Вандышев В.В., (1969), Хим. природн. соед., №2, стр. 118-119. Виснадин - новый компонент растений рода *Phlojodicarpus*.
4. Соколов С.Я., Белова Л.Ф., Сакович Г.С., Шарова Г.П., Колхир В.К., Алибеков С.Д., Мартынова Р.Г., Скляр Ю.Е., Вандышев В.В., Кривут Б.А., (1983), Состояние и перспективы исследований биологически активных веществ из растений и создание на их основе новых лекарственных препаратов, Сб. научн. трудов ВИЛАР, стр. 150 - 158, «Фармакологические свойства фловерина»
5. Скляр Ю.Е., Вандышев В.В., Кривут Б.А., Авт. свид. № 597109 от 15.11.1977, Способ получения суммы дигидросамидина и виснадина

SKLYAR YU.E., SOKOLOVA A.I., VANDYSHEV V.V., KRIVUT B.A.

THE PREPARATIVE METHOD OF DIHYDROSAMIDIN AND VISNADIN ISOLATION FROM *PHLOJODICARPUS SIBIRICUS* ROOTS

The isolation method gives 60% of pure dihydrosamidin and visnadin mixture.

ЛАПА Г.Б., ШЕЙЧЕНКО В.И., ТОЛКАЧЕВ О.Н.

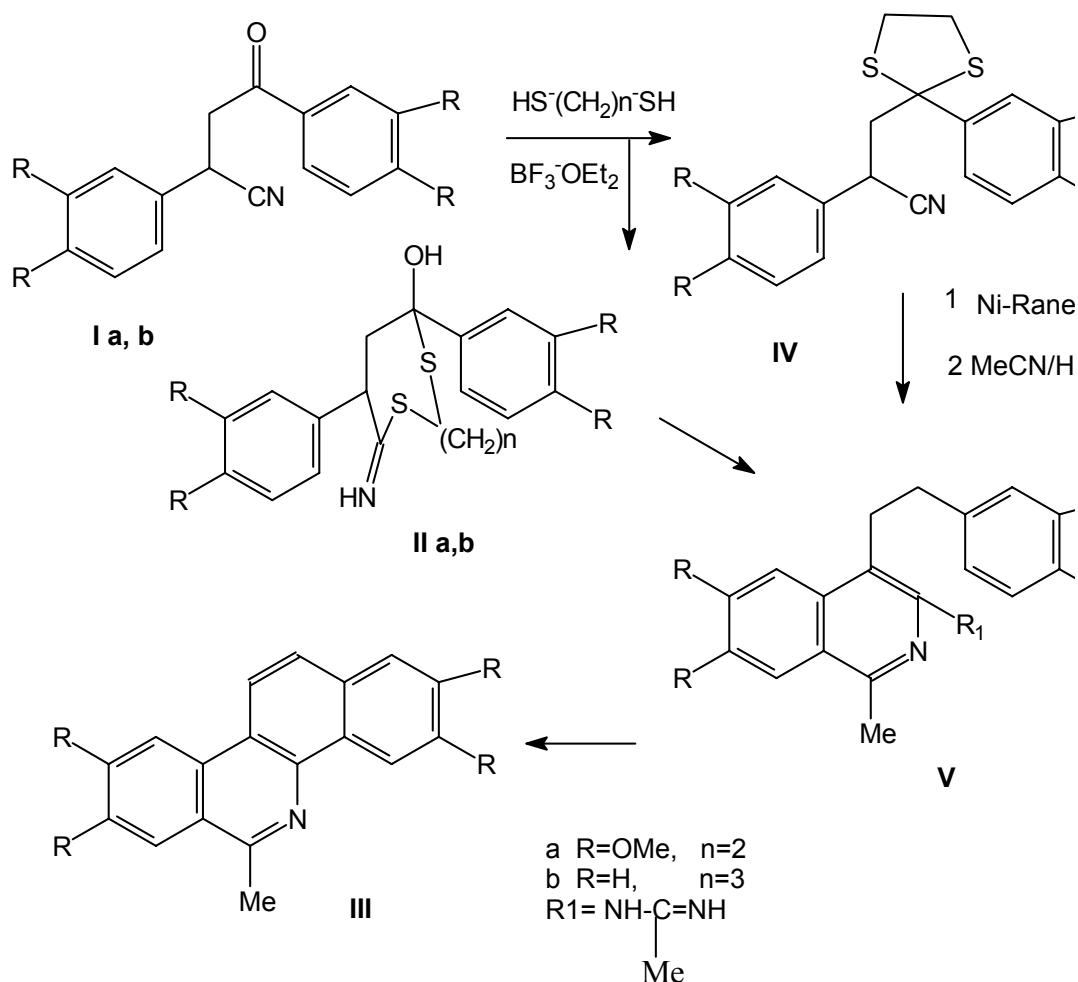
ВИЛАР, Москва, Россия

ПОИСК НОВЫХ ПОДХОДОВ К СИНТЕЗУ БЕНЗО[С]ФЕНАНТРИДИНОВЫХ АЛКАЛОИДОВ

В лаборатории алкалоидов ВИЛАРа [1-3], параллельно с группой английских ученых [4], разработан новый метод синтеза замещенных 3-аминоизохинолинов. Наши исследования дают интересную возможность получения как природных аналогов и производных простых изохинолиновых алкалоидов, так и расширить использование этого метода на синтез более сложных алкалоидов, включающих в себя изохинолиновый фрагмент молекулы, например, бензо[с]фенатридиновых алкалоидов. Природные соединения этого типа привлекают внимание не только своей высокой биологической активностью [5-6], но и в определенной степени стали полигоном для соревнования идей в синтетических подходах.

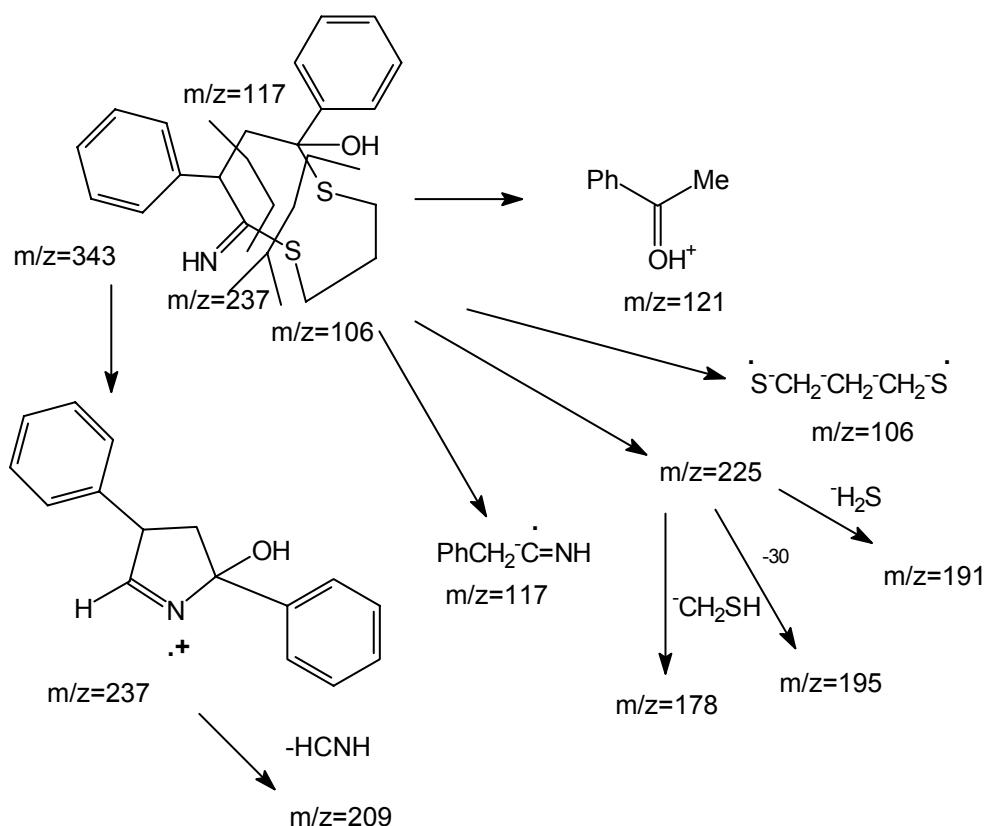
Основной идеей, которую предлагаем мы, является использование кислотокатализируемой циклокондсации для синтеза 6-метил-бензо[с]фенантридинов (**III**) через формирование синтона **I**, как показано на схеме 1.

Схема 1



При попытке создать необходимый синтон **IV**, нами была синтезирована новая группа гетероциклических соединений - дитиаимидоциклоалканы **IIa,b** [7]. Известно, что меркапта-

Схема 2



В их ИК-спектрах характеристичные полосы поглощения связей CN и CO исходных соединений отсутствуют, что свидетельствует об их участии в процессе реакции. ИК-спектр соединения Па содержит полосы поглощения 3365 и 3170 см⁻¹, которые были отнесены к валентным колебаниям О-Н и =N-H связей, а полосу при 1670 см⁻¹ к валентным колебаниям C=N связи [1]. Из ЯМР-¹³C и АРТ (Attach Proton Test) спектров следует, что молекулы Па,б имеют брутто-формулы C₂₂H₂₇NO₅S₂ и C₁₉H₂₁NOS₂ соответственно, что свидетельствует о наличии в их структуре одного гетероцикла. Наличие ароматических заместителей, полиметиленовой группы -(CH₂)_n- и изолированного фрагмента -CH₂CH= следует из спектра ПМР.

Сигналы протонов полиметиленовой группы находится в области 2,5..2,9 м.д. Сигнал метиленовой и метиновой групп бутирильного фрагмента образует систему AMX ($J_{AM}=14,0$, $J_{AX}=7,0$, $J_{MX}=3,5$ Гц), отнесение которых сделано по спектрам COSY. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что синтезированные соединения являются имино-гидроксидитиациклоалканами IIa,b. Образование этих гетероциклов следует рассматривать как синхронное взаимодействие двух электрофильных центров (углеродов карбонильной и нитрильной групп) с нуклеофильными меркаптогруппами IIa,b. Показано, что продукты реакции не восстанавливаются при кипячении в присутствии Ni-Raney в течение одного часа. Использование других конденсирующих реагентов как катализаторов, применяемых при дитиокетальных защитах (п-толуолсульфокислоту в толуоле, безводный $AlCl_3$), а также для синтеза тииминов (Et_3N , пиридин) не привело ни к увеличению выходов, ни к ускорению реакции.

Конформации синтезированных диарил-замещенных имино-дитиациклооктана (IIa) (нонана - IIb) рассчитаны методом молекулярной механики по программе MM2 (ChemOffice 2000), причем, как видно из данных расчета, вероятность образования цис-5,7-диарил- и транс-5,7-диарил-изомеров для IIa и, соответственно, 6,8-дифенил-аналогов соединений формулы IIb практически одинакова. На рисунках 1 и 2 изображены конформации цис-изомеров соединений IIa (искаженное седло) и IIb (искаженная софа), которым соответствует минимальная потенциальная энергия соответственно $\Sigma E=46,07$ и $16,37$ ккал/моль. Расчетные конформации соответствующих транс-изомеров указанных соединений близки по стабильности цис-изомерам ($\Sigma E=42,22$ и $14,21$ ккал/моль соответственно).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Контроль за ходом реакции и чистотой полученных соединений осуществляли методом ТСХ на пластинках "Silufol UV-254" в системе хлороформ - этанол - 25% раствор NH_3 45:5:0,2; ИК-спектры снимали на спектрометре "Specord" (ГДР) в вазелиновом масле, масс-спектры записаны на "Varian MAT CH8" при 70 eV. ЯМР-спектры записаны на спектрометре Gemini 200 (Varian, США) при рабочей частоте 200 мГц в $CDCl_3$, внутренний стандарт ТМС. Эфират трифторида бора использовали свежеперегнанным. 3,4,3',4'-Тетраметоксисалкон синтезирован по методу [10], выход 85%, $T_{пл}$ 107...8°C (изопропанол) (лит. $T_{пл}$ 108°C [10]).

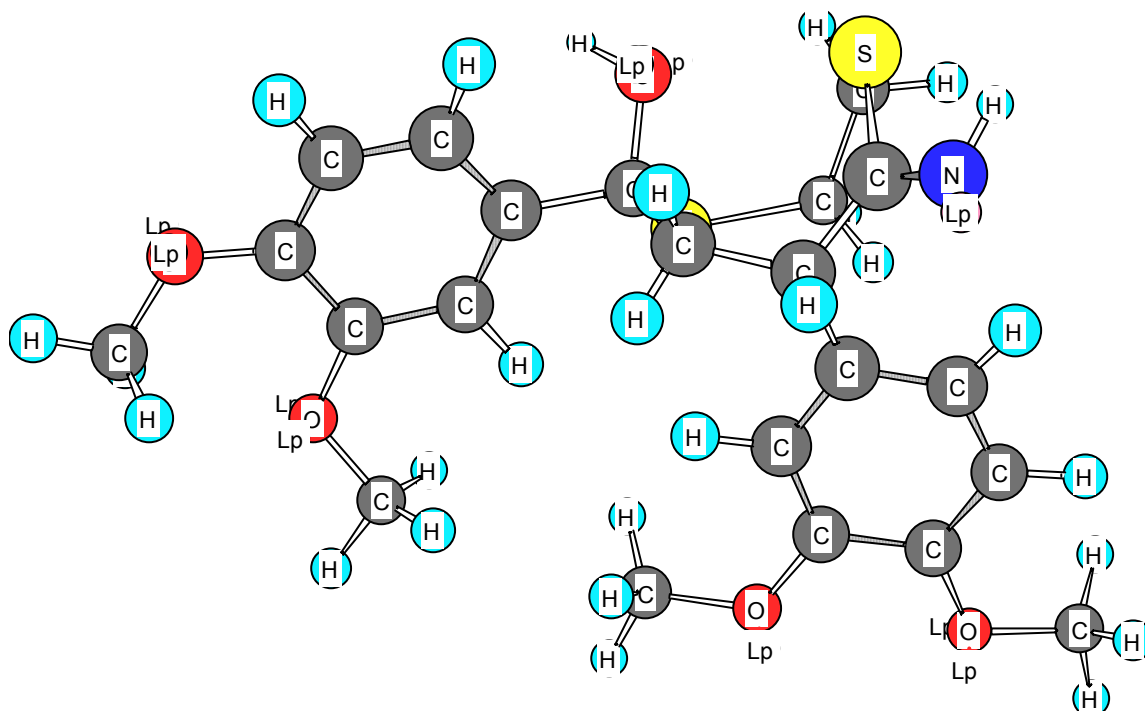


Рис.1. Компьютерная молекулярная модель *цис*-5,7-бис-(3,4-диметоксифенил)-5-гидрокси-7-имино-1,4-дитиациклооктана (IIa).

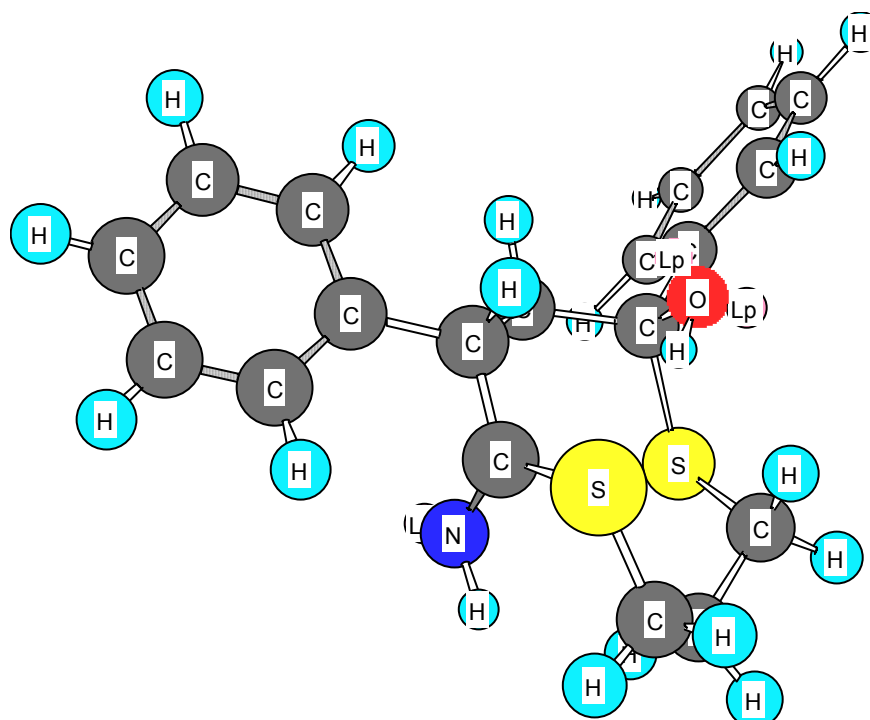


Рис. 2. Компьютерная молекулярная модель *цис*-6,8-дифенил-6-гидрокси-9-имино-1,5-дитиа-циклононана (IIb).

2,4-Диарилбутиронитрил-4-оны получают по методу [11], выход Ib - 87%, Ia - 91% . Спектр ЯМР- ^{13}C (Ia)(APT): 31,82 (HC(2)); 44,15 (CH₂(3)); 56,13 (O-CH₃); 110,32 (HCAr-m); 110,48 (HCAr-m); 111,02 (HCAr-o); 111,93 (HCAr-o); 119,84 (HCAr-p); 120,90 (CN); 122,86

(HCAr-p); 127,94 (C(1')); 129,25 (C(1'')); 149,26 (COAr-m); 149,45 (COAr-m); 149,68 (COAr-p); 154,16 (COAr-p); 193,32 (C=O).

5,7-Бис(3,4-диметоксифенил)-5-гидрокси-7-имино-1,4-дитиациклооктан (IIa).

К раствору 1,2 г (3 ммоль) 2,4-бис-(3,4-диметоксифенил)бутиронитрил-4-она, в 15 мл уксусной кислоты, прибавляют 2 мл (20 ммоль) 1,2-димеркаптоэтана и смесь 2 мл эфирата трифтористого бора с 2 мл уксусной кислоты. Смесь перемешивают 3 суток при комнатной температуре, выливают в воду и экстрагируют хлористым метиленом. Экстракт промывают 5% раствором гидроокиси натрия, насыщенным раствором хлорида натрия, сушат безводным сульфатом натрия, упаривают до одной трети первоначального объема, выпавший осадок соединения IIIa отделяют и перекристаллизовывают из этанола. Маточные растворы упаривают и выделяют из них 0,42 г исходного бутиронитрила Ia. Выход соединения IIIa 0.5 г (50,5 %), $T_{пл}$ 140...142°C (этанол). ИК спектр: 3365 (O-H), 3170 (=N-H), 1670 (-C=N-), 1250, 1125, 1010 cm^{-1} (C-O-C). Спектр ПМР (COSY): 1,68 (1H, с, OH); 2,63 (1H, дд, $J = 14$ и $J = 7$ Гц - 6-H_A); 3,18-3,30 (3H, с, -CH₂); 3,35 (1H, т, $J = 7.0$ Гц 7-H_X); 3,52 (1H, дд, $J = 14$, $J = 7$ Гц - 6-H_M); 3,83, 3,84, 3,85, 3,86 (4^X3H, с, -OCH₃); 5,25 (1H, с, NH); 6,66-6,78 (4H, м, -аром.); 7,18-7,24 м.д. (2H, м - аром.). Спектр ЯМР-¹³C (APT) : 38,88 (CH₂); 39,92 и 47,56 (CH₂(2,3)); 51,20 (HC(7)); 56,42 (O-CH₃); 74,27 (C-OH); 110,99 (HCAr-m); 111,85 (HCAr-m); 112,00 (HCAr-o); 120,40 (HCAr-o); 120,97 (HCAr-o); 133,39 (C(1')); 137,16 (C(1'')); 148,79 (C-OAr-m); 148,94 (C-OAr-m); 149,00 (C-OAr-p); 149,78 (C-OAr-p); 175,78 м.д. (S-C=NH); Масс-спектр (m/z, %): M⁺ 449(100), 359(50), 346(13), 313(25), 241(48), 195(63), 151(60), 124(61). Найдено %: C 58,89; H 5,98; N 3,43. C₂₂H₂₇NO₅S₂. Вычислено %: C 58,80; H 6,01; N 3,12.

6,8-Дифенил-6-гидрокси-9-имино-1,5-дитиациклононан (IIb).

Синтезируют по методу, описанному выше из 2,4-дифенил-бутиронитрил-4-она и 1,3-димеркаптопропана. Выход дитиациклононана IIb 47% в расчете на вступивший в реакцию бутиронитрил. $T_{пл}$ 107...109°C (метанол). Спектр ПМР: 1,90 (2H, м, 3-H); 2,27 (1H, дд, $J = 14,6$ и $J = 3,5$ Гц - 7-H_A); 2,70 (4H, м, 2-H, 4-H); 3,32 (1H, дд, $J = 14,6$ и $J = 7,1$ Гц 7-H_M); 3,45 (1H, дд, $J = 7,1$ и $J = 3,5$ Гц - 8-H_X); 5,1 (1H, с, =N-H); 7,18 (9H, м, аром.); 7,77 м.д. (1H, дд, аром.). Масс-спектр (m/z, %): M⁺ 343 (30), 300(93), 237(100), 225(50), 209(43), 195(57), 191(50), 178(14), 135(70), 121(72), 103(100). Найдено %: C 66,37; H 6,07; N 3,85. C₁₉H₂₁NOS₂. Вычислено %: C 66,47; H 6,12; N 4,08.

Авторы благодарят проф. МГУ Терентьева П.Б. за помощь в снятии и интерпретации масс-спектра (IIIb).

ЛИТЕРАТУРА

1. Sereda A.V., Sukhov I.E., Zolotarev B.M., Yartseva I.V., Tolkachev O.N. Acid promoted cyclocondensation of nitriles. I. Novel synthesis of 3-aminoisoquinolines and their derivatives.// Tetrahedron Letters - 1992 - Vol. **33** - No 29, pp. 4205-4208.
2. Середа А.В., Сухов И.Е., Лапа Г.Б., Золотарев Б.М., Ярцева И.В., Толкачев., // Журнал органической химии. – 1994 - Т. **30**, вып. 12 - С. 1782-1790.
3. Середа А.В., Толкачев О.Н., Золотарев Б.М., Ярцева И.В., Способ получения производных 3-аминоизохинолина, Авт. свид. № 1540231, 01.10.89, по заявке № 4345440/04, приор. 18.12.87, опубл. 15.11.94, Бюлл. № 21.
4. Booth B.L., Collis A. One-step Synthesis of N-(1-Benzylisoquinolin-3-yl)phenylacetamidinium trifluoromethanesulphonate derivatives from phenylacetonitriles and trifluoromethansulfonic acid. // J. Chem. Res. - 1989 - P. 305 – 312.
5. Suffness M., Cordell G.A. Antitumor alkaloids. In: The Alkaloids, Chemistry and Pharmacology. Ed by Brossi A., - Academic press, Orlando etc. - 1985 - Vol. **XXV**. - 369 pp.
6. Gupta S.P. Quantitative Structure-Activity Relationship of Anticancer Drugs // Chem. Rev. 1994 - Vol. **94** - P. 1507-1554.
7. Г.Б. Лапа, В.И. Шейченко, О.Н. Толкачев Синтез новых дитиациклоалканов. // Химия гетероциклич. Соединений – 1997, № 9 - С. 1219-1221.
8. Защитные группы в органической химии . Ред. Д. Макоми, (под ред. В.Г.Яшунского), М.: Мир, 1976.- 319 с.
9. Soga T., Takenoshita H., Yamada M., Han J.S., Mukaiyama T., Reaction of α,β -Unsaturated Ketone Acetals with Trimethylsilyl Cyanide and Trimethylsilyl Sulfide // Bull. Chem. Soc. Japan, 1991, Vol. **64**, No 4 - P. 1108-1117.
10. Richardson T., Robinson R., Seijo E. // J. Chem. Soc. - 1937.- No 4 - P. 835
11. Betts B.E., Dewecy W. // J. Chem. Soc. - 1958.- No 11 - P. 2606 - 2608.

Lapa G.B., Sheichenko V.I., Tolkachev O.N.,

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

**A SEARCH OF NEW APPROACHES TO BENZO[C]PHENANTHRIDINE
ALKALOIDS SYNTHESIS**

New approaches to the synthesis of benzo[c]phenanthridine alkaloids via dithiaderivatives were studied. There were shown that oxonitriles (I a,b) react with dithiaalkanes to produce diarylimino-cyclodithiaoctane(nonane) (II a,b), the structure and the conformation of which are discussed.

Г.Б. ЛАПА, В.И. ШЕЙЧЕНКО, М.А. ИВАНОВ,
Е.Н. ЗВОНКОВА, В.А. БЫКОВ
ВИЛАР, Россия, Москва.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА ПРИ РАЗРАБОТКЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ПРЕПАРАТОВ ИЗ ЭРГОАЛКАЛОИДОВ

С середины 90-х годов по настоящее время лабораторией эргоалкалоидов на базе ПЭЗ ВИЛАР выпускаются субстанции эргоалкалоидов и полусинтетических производных на их основе, для препаратов «Абергин» и «Дегидроэргокристин мезилат».

Разработка технологии производства субстанций эргоалкалоидов и их полусинтетических производных и на этапе первичных экспериментов, и на этапе оптимизации отдельных стадий, и на этапе масштабирования требует множество сведений как о качественно-количественном составе целевых продуктов так и о наличии побочных продуктов. Наиболее подходящими для этих целей являются инструментальные методы - ВЭЖХ [1] и ЯМР[2,3].

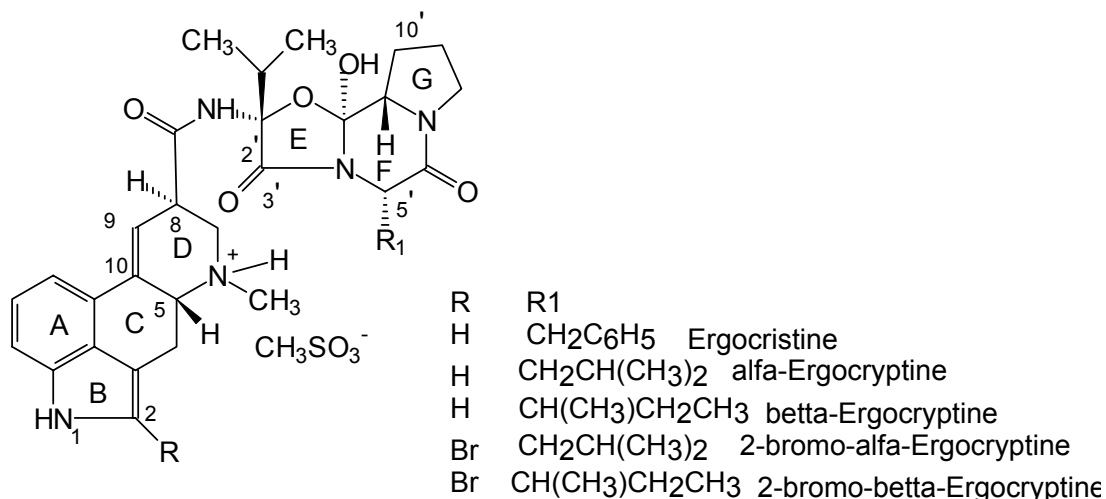


Схема 1.

Именно эти методы, разработанные в отделе стандартизации и сертификации ВИЛАРа, позволяют дать достаточно точную (доверительный интервал $\pm 5\%$) информацию о качественном составе сложных смесей эргоалкалоидов (см. Схему 1) и близких по структуре побочных продуктов и количественном составе компонентов. Наиболее удобным является совместное использование обоих методов и ЯМР и ВЭЖХ. Так, состав смесей эргоалкалоидов в случае получения 2-бром-производных α - и β -эргокриптинов (абегрин) одинаково хорошо диагностируется и ЯМР и ВЭЖХ, позволяя оценить примеси 2-бром-эргокорнина, составляющего менее 2% и в том и в другом случае (рис. 1).

и 2).

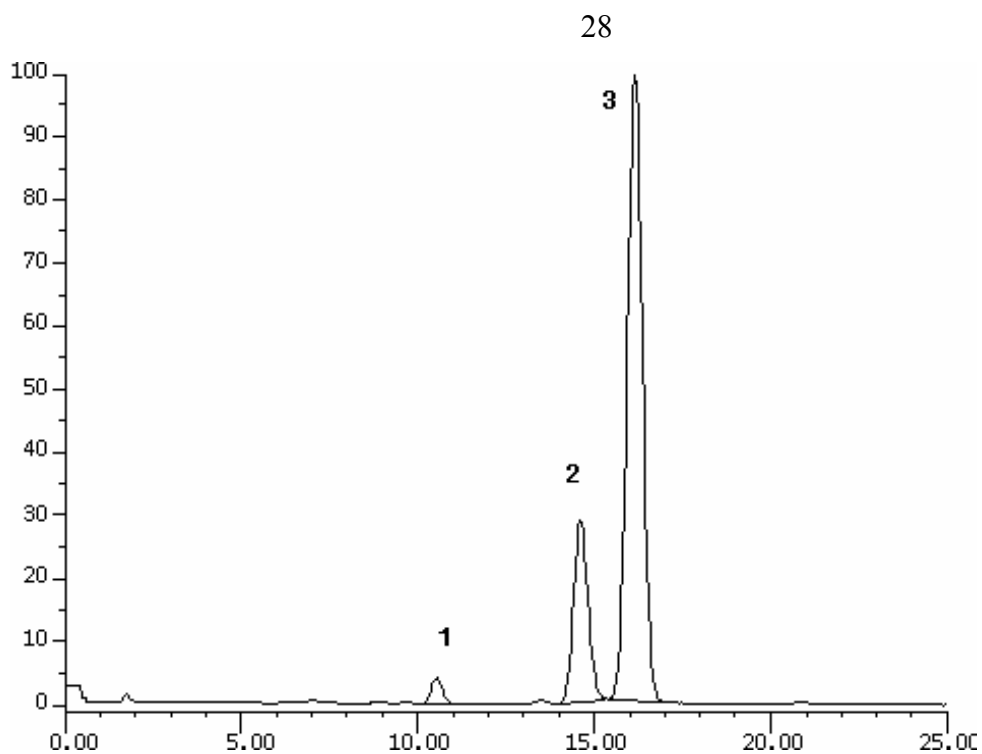


Рис. 1. ВЭЖХ смеси продуктов бромирования 1 - 2-бром-эргокорнина, 2 - 2-бром- α -эрогокриптина, 3 - 2-бром- β -эрогокриптина

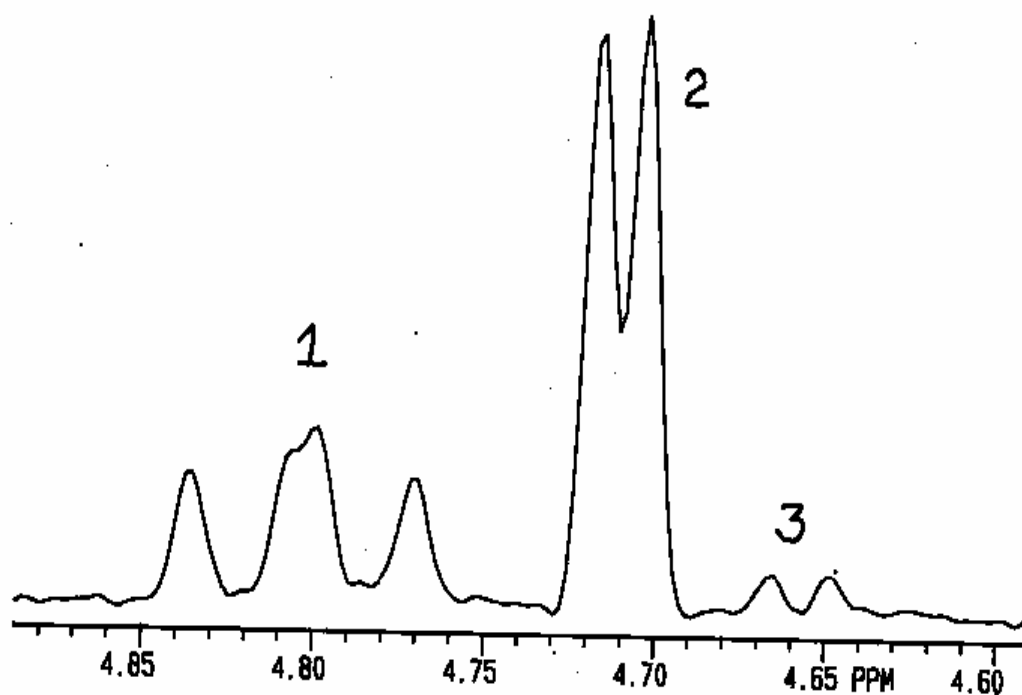


Рис. 2. Фрагмент ЯМР - спектра продукта бромирования α - и β -эрогокриптинов. Сигнал 5' СН- группы. 1 - 2-бром- α -эрогокриптин, 2- 2-бром- β -эрогокриптин, 3- 2-бром-эргокорнин.

При разработке методов экстракции из сырья и очистки не модифицированных эргоалкалоидов можно контролировать соотношение изомеров α и β -эрогокриптинов в технических суммах (рис. 3), а также состав сольвата, поскольку не всегда методом определения процента летучих веществ, можно получить точный результат, так как сольваты некоторых эргоалкалоидов не удается разрушить при нагревании в вакууме полностью.

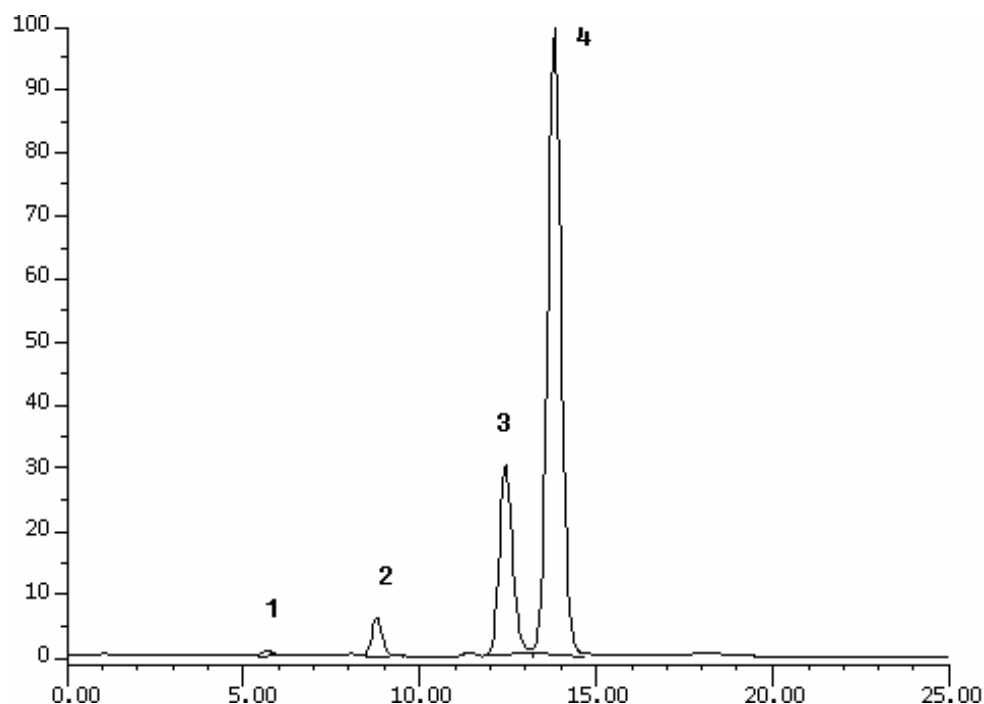


Рис. 3. ВЭЖХ смеси эргоалкалоидов технической суммы эргокриптинового штамма. 1-эрготамин, 2-эргокорнин, 3- α -эргокриптин, 4- β -эргокриптин

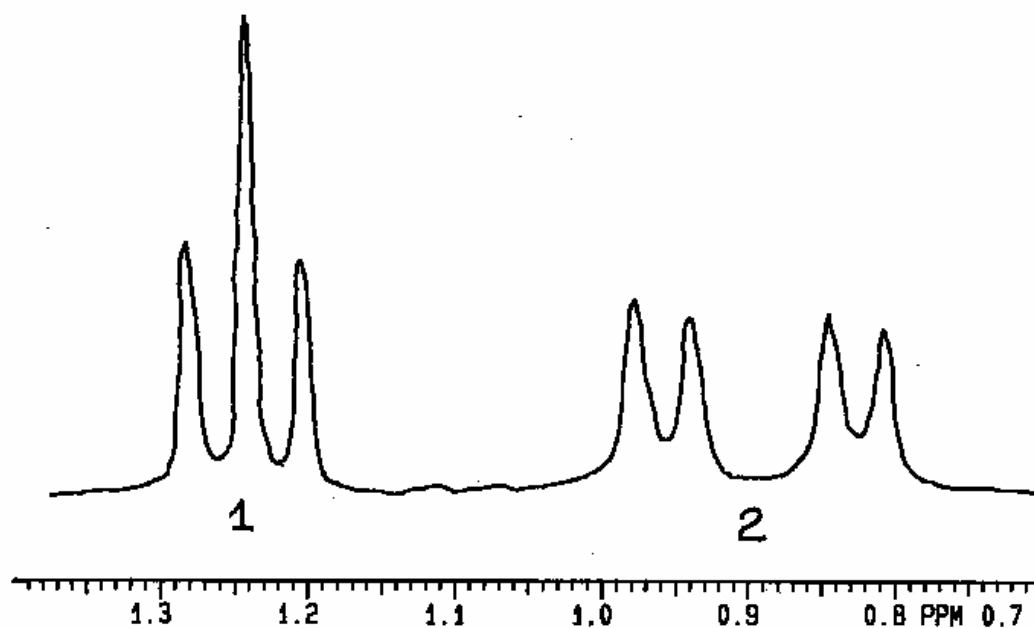
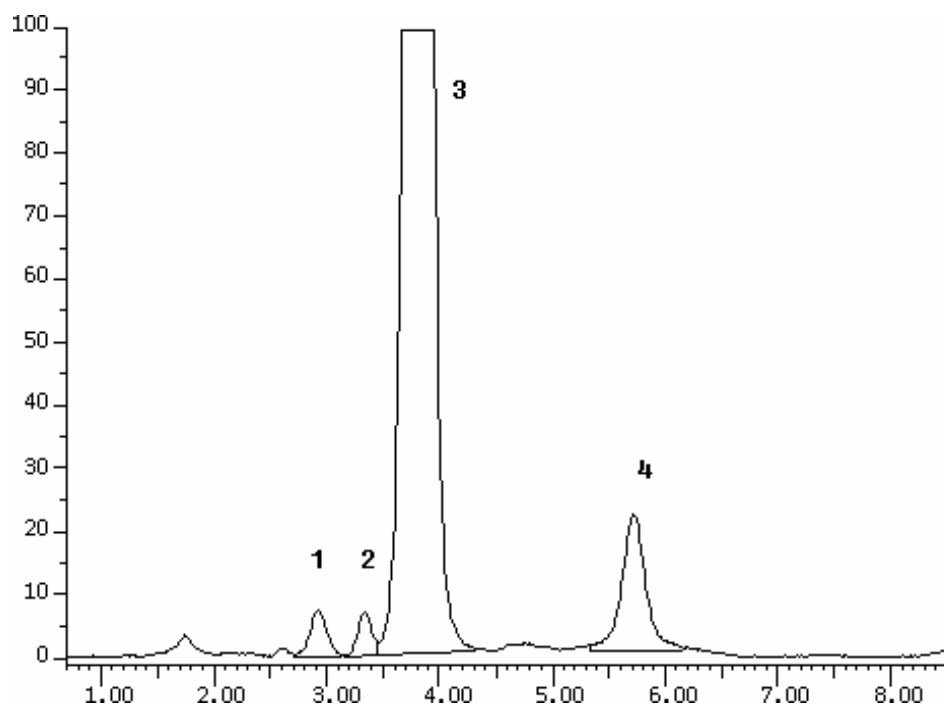


Рис. 4. Фрагмент ЯМР-спектра сольвата эргокристина с этилацетатом. 1-сигнал СН₃ группы этилацетата, 2 - сигнал СН₃ изопропильной группировки эргокристина

Примером может служить сольват эргокристина (I) с этилацетатом, который в зависимости от условий кристаллизации может содержать как одну, так и две молекулы растворителя (рис. 4). В ходе гидрирования I на никеле Ренея водородом «*in situ*» иногда в конце реакции происходит нежелательное равновесное торможение процесса из-за протекания как гидрирования, так и дегидрирования на катализаторе. Методы ВЭЖХ (рис. 5) и ЯМР (рис. 6) позволяют оценить процент содержания невосстановленного вещества и подобрать адекватный прием выделения дигидроэргокристина (II).



(Рис. 5) ВЭЖХ смеси продуктов гидрирования эргокристина: 1- 9,10-дигидро- α -эргокриптин, 2- 9,10-дигидро- β -эргокриптин, 3- 9,10-дигидро-эргокристин, 4 - эргокристин.

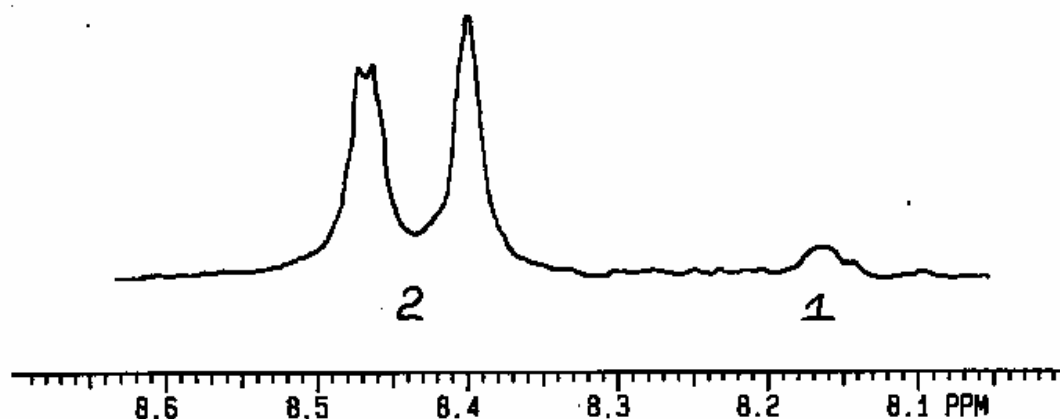


Рис. 6. Фрагмент ЯМР - спектра мезилата дигидроэргокристина с примесью эргокристина. 1-сигнал амидного протона эргокристина, 2- группа сигналов NH амидного и индольного протонов дигидроэргокристина.

Чаще всего выгодно один и тот же образец анализировать обеими методами, что дает возможность снизить вероятность технологических ошибок и достичь в каждом случае желаемого качества полупродуктов и целевых субстанций, избежать образования эпимеров и побочных продуктов распада.

Инструментальные методы анализа также весьма важны при стандартизации целевых субстанций. Однако их применение в ФС и ВФС на эргоалкалоиды тормозится часто не полным представлением об агрегатном состоянии субстанции в растворах. Многие результаты существенно различаются при изменении шкалы концентраций или среды, в которой ведутся измерения. Например, характерным признаком, подтверждающим подлинность дигид-

роэргокристина мезилата, является наличие в спектре ЯМР сигналов в области 7,3 м.д. (фенильный заместитель), а также в области 1,0-1,2 м.д. (изопропильный радикал), что использовано при разработке нормативно-технической документации на субстанцию дигидроэргокристина мезилата (III). При более детальном исследовании данной субстанции мы обратили внимание на то, что другие характеристические сигналы при снятии ЯМР-спектра для растворов III различной концентрации существенно меняют свое положение. Результаты исследования показаны в таблице 1.

Таблица 1. Химические сдвиги (м.д.) протонов для водного сольвата дигидроэргокристина мезилата в зависимости от концентрации раствора в $CDCl_3$

Функц. Группа	50 мг/мл	33 мг/мл	22 мг/мл	15 мг/мл	7 мг/мл	4 мг/мл	2 мг/мл	1 мг/мл
НОН	4,55	4,25	3,76	3,41	2,21	1,77	1,71	1,68
NH-амидн.	9,12	8,98	8,79	8,66	8,50	8,35	8,22	8,35
NH-индол.	8,69	8,61	8,56	8,52	8,55	8,47	8,40	8,20
CH_3N	2.65	2.70	2.79	2.86	2.94	2.97	3.05	3.05
+NH- CH_3	-	-	-	-	-	11.2	11.37	11.48
CH_3S	2.82	2.82	2.85	2.85	2.83	2.83	2.83	2.85

Из табличных данных видно, что изменения химических сдвигов сигналов протонов наблюдаются у четырех функциональных групп. Наиболее ярким является подвижность сигнала, характеризующего воду. Он движется в области от 4,55 м.д. до 1,68 м.д. Также интересным представляется появление и дальнейшая подвижность сигнала характеризующего протон группы +NH- CH_3 , для растворов с концентрацией от 4,0 до 1,0 мг/мл (см. табл.).

Можно сделать вывод, что при разведении происходят изменения в состоянии вещества в растворе, которые и влекут за собой сдвиги сигналов, характеризующих некоторые функциональные группы. Это позволяет более точно установить определенный концентрационный интервал, позволяющий интерпретировать результаты анализов препарата.

Таким образом в статье мы приводим примеры основных направлений использования инструментальных методов анализа при разработке технологии производства субстанции из эргоалкалоидов.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Волков С.К., Калько И.С., Пинеев С.А. //Хим. Фарм. Ж. (1996), № 2, с.56-57
- 2 J. Stuchlik, A. Krajicek, L. Cvak, J. Spacil, P. Sedmera, M. Flieger, J. Vokoun, Z. Rehacek, // Coll. Czech. Chem. Communs.(1982), Vol. 47, # 12, p. 3312-3317
3. S. Spassov, B. Michova, P. Denkova, FECS Int. Conference on Chemistry and Biotechnology of Biologically Active Natural Products (1989), Vol. 2, p. 351-359, Varna, Bulgaria.

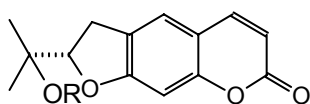
Lapa G.B., Sheichenko V.I., Ivanov M.A., Zvonkova E.N., Bikov V.A.
All-Russia Inst. Medicinal and Aromatic Plants

Using of analytical instrumentation in development of technology semisynthetical ergot alkaloids.

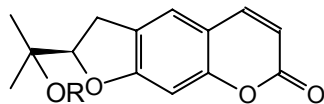
The using HPLC together with NMR for research and development of technology manufacturing of semisynthetical ergot alkaloids is described.

ДЕГИДРАТАЦИЯ МАРМЕЗИНА ТИОНИЛХЛОРИДОМ

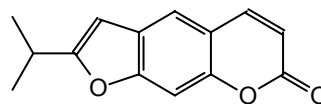
Отходы производства фотосенсибилизирующего препарата аммифурин содержат дигидрофурокумарин мармезин. С целью использования последнего из него с выходом порядка 30% был получен противогрибковый препарат «илзомарин», который, как полагали авторы[1], являлся бензоатом мармезина(II). При дальнейшем изучении оказалось, что индивидуальный бензоат мармезина, полученный рациональным методом и идентичный по всем показателям природному феламедину[2], не обладает никакой противогрибковой активностью. Для того чтобы исключить возможность изомеризации мармезина в процессе неадекватно проведенной реакции в его стереоизомер нодакенетин(III), был получен бензоат нодакенетина(IV), который также оказался неактивным. Не проявил противогрибковой активности и рацемат, полученный смешением эквимольных количеств II и IV. Детальное изучение т.н. «илзомарина» показало, что он является смесью по крайней мере пяти веществ, из которых в значительных количествах присутствовали два изомера ангидромармезина (V и VI). При этом активным оказался только 5'-изопропенил-4',5'-дигидропсорален(VI).



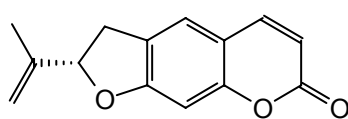
I, R=H

II, R=COC₆H₅

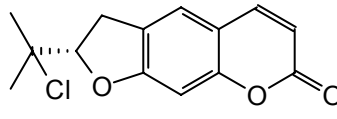
III, R=H

IV, R=COC₆H₅

V



VI



VII

Для разработки более эффективного метода получения противогрибкового препарата была изучена реакция дегидратации мармезина тионилхлоридом. При взаимодействии последнего с I была получена смесь VI, VII и V в соотношении 1,0 : 1,0 : 1,8 с выходом более 70% [3]. Все три компонента были получены в индивидуальном виде, но V был практически неактивен, а хлорпроизводное VII уступало по активности VI более, чем в двадцать раз. Интересно отметить, что полученная смесь не уступала по

активности действующему веществу препарата - 5'-изопропенил-4',5'-дигидропсоралену (VI); не исключено, что в данном случае мы имеем дело с синергизмом. Препарат под названием «илзомарин» успешно прошел клинические испытания и был разрешен для применения в медицинской практике, однако впоследствии был модифицирован [4], и в настоящее время применяется анмарин, состоящий из смеси V и VI, но не превосходящий по действию «илзомарин».

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Получение «илзомарина». К 70,4 г тионилхлорида при -5° прибавляют при энергичном перемешивании 80,0 г мармезина небольшими порциями в течение 2 час. После растворения всего количества мармезина перемешивают еще 10 мин., избыток тионилхлорида разлагают ледяной водой (400 мл), образовавшийся осадок отделяют, промывают водой (3 л) до нейтральной реакции и сушат. Выход технического продукта 70,6 г.

Для получения чистого препарата 69,0 г технического продукта растворяют при нагревании в 310 мл бензола, охлаждают до 20°, прибавляют 138 г окиси алюминия, перемешивают 3 часа, фильтруют. Окись алюминия на фильтре промывают нагретым до 80° бензолом (3х100 мл). После удаления растворителя получают 58,1 г (75,2% в расчете на средний молекулярный вес) светло-желтого кристаллического вещества, состоящего из 5'-изопропенил-4',5'-дигидропсоралена, 5'-(2-хлоризопропил)-4',5'-дигидропсоралена и 5'-изопропилпсоралена в соотношении 1:1:1,8 (определено по интенсивности сигналов метильных групп в спектре ЯМР препарата).

Хроматографией «илзомарина» на силикагеле Л 40/100 мк в системе петролейный эфир - этилацетат с увеличивающимся градиентом последнего получены 5'изопропилпсорален, т. пл. 136-137°, 5'-(2-хлоризопропил)-4',5'-дигидропсорален, т. пл. 178-179°, и 5'-изопропенил-4',5'-дигидропсорален, т. пл. 117-118°.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кривут Б.А., Авраменко Л.Г., Перельсон М.Е., Никонов Г.К., (1970), Химия природн. соед., №5, стр 526, Получение и количественное определение бензоилмармезина.
2. Скляр Ю.Е., Авраменко Л.Г., Духовлинова Л.И., (1973), Химия природн. соед., №3, стр.427-428, О способе получения феламедина
3. Авраменко Л.Г., Скляр Ю.Е., Авт. свид. №505190 от 5.11.1975, Способ получения препарата «илзомарин»

4. Горбунов В.Д., Скляр Ю.Е., Ерохина Л.В., Ларионов Н.Г., Шейченко В.И., Вечканова Л.Д., Либизова Л.Ф., Вичканова С.А., Толстых Л.П., Кабанов В.С., Фатеева Т.В., Гаврилова М.Н., Громакова А.И., Авт. свид. №1370966 от 01.10.1988, Способ получения препарата «Илзомарин», обладающего противогрибковой активностью

SKLYAR YU.E., AVRAMENKO L.G., DUKHOVLINOVA L.I., VICHKANOVA S.A.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

THE MARMESIN DEHYDRATION BY THIONILCHLORIDE

The reaction of marmesin with SOCl_2 gives 5'-isopropylpsoralen, 5'-isopropenyl-4',5'-dihydropsoalalen and 5'-(2-chlorisopropyl)-4',5'-dihydropsoalalen.

КИРЬЯНОВ А.А., СТИХИН В.А., СОКОЛЬСКАЯ Т.А.

ВИЛАР, Москва, Россия

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫХ МАРЕНЫ КРАСИЛЬНОЙ

Одним из эффективных отечественных препаратов нефролитического действия является "экстракт марены сухой", получаемый из корней марены красильной. Препарат был создан в ВИЛАРе в начале 70-х годов и до настоящего времени является достаточно популярным.

Основными действующими веществами препарата являются связанные антраценпроизводные, а именно антрагликозиды. По содержанию этих соединений и ведется оценка качества препарата и сырья - корней марены красильной. Так согласно ГФ XI изд., выпуск 2, корневища с корнями марены красильной стандартизуются по содержанию производных антрацена (антрагликозидов). Методика анализа заключается в количественном определении общей суммы оксиантрахинонов, полученных после обработки сырья гидролизующей смесью Келлер-Килиани, и последующего извлечения агликонов органическим растворителем (диэтиловым эфиром). Параллельно проводится определение свободных производных антрацена (агликонов) путем их экстракции из сырья диэтиловым эфиром без обработки его гидролизующей смесью. Как в первом, так и во втором случае оксиантрахиноны из органического растворителя переводят в водный щелочной раствор и концентрацию их определяют по интенсивности поглощения окрашенных растворов в видимой области на фотоэлектроколориметре с зеленым светофильтром. Далее, путем вычитания определяется содержание связанных в виде гликозидов оксиантрахинонов в исследуемом сырье. Анализ проводится с использованием калибровочной кривой, построенной по хлориду кобальта. Аналогично проводится количественное определение антрагликозидов в препарате "экстракт марены".

Однако, несмотря на кажущуюся простоту, этот метод имеет существенные недостатки, как в принципиальном подходе, так и в техническом исполнении. С одной стороны он является достаточно трудоемким и длительным в исполнении, а с другой стороны - не гарантирует достоверных результатов, так как получаемые после гидролиза агликоны основных гликозидов имеют в щелочной среде в определяемой области значительно удаленные друг от друга максимумы поглощения. Так, например, ализарин-агликон руберитриновой кислоты в щелочной среде имеет максимум поглощения в области 560 нм, а луцидин-агликон луцидинпримверозид - в области 482 нм. Оба указанных антрагликозида составляют основную массу в сумме антрагликозидов, содержащихся в корнях марены и препарате "экстракт марены". Соотношение этих гликозидов в сумме может значительно колебаться из-за места произрастания растения, его возраста, условий питания при культивировании растения и т.д. поэтому количественная оценка содержания суммы антрагликозидов в образцах растений различного происхождения может быть не достоверной.

В связи с выше изложенным нами были проведены исследования по изучению физико-химических свойств основных антрагликозидов корней марены и установлено, что отдельные гликозиды имеют следующие максимумы поглощения в подкисленных водных растворах:

руберириновая кислота – 418 нм ($\lg \epsilon = 3,83$)

луцидинпримверозид – 410 нм ($\lg \epsilon = 3,746$)

луцидин глюкозид – 410 нм ($\lg \epsilon = 3,764$)

рубиадинпримверозид – 412 нм ($\lg \epsilon = 3,860$).

Учитывая то, что максимумы поглощения отдельных антрагликозидов марены в длинноволновой области являются размытыми и по значению близкими, мы предлагаем определять сумму их при длине волны 410 нм, используя при этом удельный показатель поглощения руберитриновой кислоты - антрагликозида наиболее легко выделяемого в чистом виде и являющегося одним из основных компонентов суммы антрагликозидов марены. Содержание руберитриновой кислоты в сумме антрагликозидов, входящих в состав экстракта марены составляет около 50%. Экстракт марены в подкисленном водном растворе имеет максимум поглощения при длине волны 406-412 нм.

При проведении анализа экстракт растворяют в подкисленной воде и отделение свободных оксиантрахинонов (ализарина, иберицина, пурпурина, рубиадина и др.) проводится путем экстракции их из водного раствора хлороформом, в котором они хорошо растворимы. Контроль за полнотой извлечения свободных оксиантрахинонов проводится с помощью

30%-ного водного раствора едкого натра, который не должен окрашиваться в краснофиолетовый цвет при добавлении к последней порции хлороформа после выбалтывания.

Таким образом количественное определение суммы антрагликозидов в экстракте марены предлагается проводить спектрофотометрическим методом при длине волны 410 нм после соответствующей очистки подкисленного водного раствора препарата. Расчет содержания суммы антрагликозидов рекомендуется проводить с использованием удельного показателя поглощения руберитриновой кислоты. Удельный показатель руберитриновой кислоты при 410 нм определен на достоверном образце и равен 122, что подтверждается литературными данными.

Метрологические характеристики разработанной методики количественного определения суммы антрагликозидов в экстракте марены сухом рассчитаны из результатов анализа одного образца препарата в 11 независимых повторностях (таблица 1).

Таблица 1

f	\bar{x}	S	P, %	t (P, f)	Δx	ε , %
10	8,07	0,2124	95	2,23	0,4736	$\pm 5,87$

По данной методике проанализировано пять серий препарата "экстракт марены сухой" в сравнении с методикой по проекту ВФС 42-1818-82. Данные представлены в таблице 2.

Таблица 2

№ п/п	Содержание суммы антрагликозидов, %	
	ФС 42-1818-82	предлагаемая методика
1.	8,27	8,21
2.	7,84	8,07
3.	8,32	8,41
4.	8,14	8,23
5.	8,02	8,14

Ниже приводится методика количественного определения антрагликозидов марены красильной в препарате "экстракт марены".

Количественное определение. Около 0,03 г (точная навеска) препарата помещают в колбу коническую со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл воды и растворяют на водяной бане при температуре 60°C в течение 30 мин. К полученному раствору после охлаждения, прибавляют 1 мл кислоты уксусной ледяной и количественно переносят в мерную

колбу вместимостью 100 мл. Объем раствора в мерной колбе доводят до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр (раствора А).

20 мл раствора А переносят при помощи пипетки в делительную воронку вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл хлороформа и взбалтывают в течение 1 мин. После разделения слоев, нижний хлороформный слой содержащий свободные антраценпроизводные, сливают. К верхнему водному слою добавляют снова 25 мл хлороформа и взбалтывают. Извлечение таким образом повторяют три раза. При этом третье хлороформное извлечение не должно давать положительную реакцию с 30% раствором натра едкого (не должно быть фиолетово-красного окрашивания).

Водный слой, содержащий сумму антрагликозидов, фильтруют через бумажный фильтр в колбу плоскодонную вместимостью 50 мл (раствор В).

Измеряют оптическую плотность раствора В на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют воду. Содержание суммы антрагликозидов в процентах (X) в пересчете на руберитриновую кислоту и абсолютно сухое вещество вычисляют по формуле:

$$X = \frac{10 \cdot 100 \cdot D \cdot 100 \cdot 100}{1000 \cdot a \cdot 1 \cdot E_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot (100 - W)} = \frac{D \cdot 100 \cdot 100}{a \cdot 122 \cdot (100 - W)}, \text{ где}$$

D - оптическая плотность испытуемого раствора В;

a - масса препарата в граммах;

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ - удельный показатель поглощения руберитриновой кислоты, равный 122;

l - толщина слоя 1 см.

Описанная методика включена в ФС 42-1818-99 на "экстракт марены сухой". Без существенных изменений эта же методика включена в ФС на таблетки "экстракт марены". Методика анализа сырья (корней марены красильной), основанная на описанном принципе предлагается для включения в ФС на корни марены красильной.

Kir'yanov A.A., Stikhin V.A., Sokol'skaya T.A.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatical Plants, Moscow, Russia

Quantitative determination of Anthraglycosides of *Rubia tinctorum* L.

Spectrophotometric method of quantitative determination of the total anthraglycosides in crudi drug of *Rubia tinctorum* and ready made drug "Dry extract of *Rubia*" has been proposed.

ГЛЫЗИН В.И., СОКОЛЬСКАЯ Т.А., КАЧАЛИНА Т.В., ОХОТНИКОВА В.Ф.,
ТАРЕЕВА Н.В., КИРЬЯНОВ А.А.

ВИЛАР, Москва, Россия

СИБЕКТАН - КОМПЛЕКСНЫЙ РАСТИТЕЛЬНЫЙ ГЕПАТОПРОТЕКТОР

За последние годы в связи с увеличением экологической загрязненности, напряженностью с лекарственным обеспечением, а также ростом заболеваемости населения вирусными гепатитами и их многообразием форм: токсических, лекарственных и аллергических поражений органов гепатобилиарной системы, Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), определяет проблему борьбы с этим заболеванием как исключительную, имеющую важное медико-социальное значение. В этой связи, актуальность продолжения поиска, необходимость изучения и создания новых эффективных лекарственных препаратов, в частности, предназначенных для профилактики и лечения заболеваний гепатобилиарной системы, еще более возрастает.

В настоящее время в фармакотерапии и профилактике заболеваний печени и билиарной системы используются различные группы лекарственных препаратов: дезинтоксикационные, противовоспалительные, желчегонные, индукторы ферментных систем, питательнозамещающие, улучшающие обмен веществ и другие.

Среди указанных групп лекарственных препаратов, использующихся в комплексной терапии заболеваний печени и желчевыводящих путей, наибольшее распространение получили средства, влияющие на процессы тканевого обмена: витамины - А, С, В₁, В₆, В₁₂, фолиевая и липоевая кислоты, калия оротат, кокарбоксилаза, гормональные препараты.

Многие авторы, занимающиеся изучением механизма развития заболеваний печени и желчевыводящих путей, особенностей патологического процесса при указанных нозоформах, отмечают, что при данных заболеваниях, в первую очередь, нарушаются процессы синтеза желчных кислот по сравнению с другими звеньями желчеобразования. Нормализации данного процесса способствует не только заместительная терапия, но и применение растительных средств, которые действуют на процессы желчеобразования и желчеотделения. Причем препараты холеретического действия представляют особую ценность. В частности, широко используются средства, способствующие продукции и оттоку желчи, среди которых подавляющее количество препаратов из растений. Терапевтический эффект растительных лекарственных средств достигается сочетанием желчегонного, противовоспалительного, спазмолитического, капилляроукрепляющего, антибактериального, нормализующего тонус

желчного пузыря действием, благодаря наличию в них различных классов биологически активных веществ.

В этой связи, выгодно отличаются от монопрепаратов комплексные лекарственные средства. Сумма биологически активных веществ, содержащихся в них, оказывают положительное влияние на все звенья патогенеза болезней.

Преимущество многокомпонентных лекарственных средств - это взаимное усиление полезных фармакологических свойств каждого входящего ингредиента, соответствие поливалентности патогенеза заболевания, воздействие в целом на организм больного как корректирующей системы.

В настоящее время широкое распространение получили лекарственные препараты на основе плодов расторопши пятнистой - *Silybum marianum* (L.) Gaethn. - карсил (синонимы: силибор, силибин, силимарин, легалон), рекомендованные для профилактики и лечения расстройств печени.

Препараты "Силибинин", "Силегон", основным действующим веществом которых является флаволигнан силибин, препятствует разрушению клеточных мембран за счет ингибирования перекисного окисления липидов и стимуляции синтеза белка и фосфолипидов в гепатоцитах. Силибор, содержащий сумму флаволигнанов (силибин, силидианин, силикристин) и флавонолов (таксифолин и кверцетин) - обладает высокой терапевтической эффективностью при лечении больных гепатитом и циррозом печени. Легалон - смесь изомерных флавоноидных соединений (силибина, силикристина и силидианина), строго стандартизованный препарат в соотношении 3:1:1, имеет несколько названий: "Легалон-35" (драже), "Легалон-70" (драже), "Легалон-140" (капсулы); они обладают гепатопротекторным и антитоксическим действием.

Несмотря на активные разработки новых гепатопротекторных средств, поиск новых растений и комплексных средств из них, обладающих гепатопротекторной активностью, остается актуальной задачей современной медицины.

В ВИЛАРе разработано многокомпонентное лекарственное средство - таблетки сибектан.

Таблетки сибектана представляют собой комплексный препарат состоящий из таначехола (ФС 42-3116-96), силимара (ФС 42-3879-99), сухого экстракта березы (ВФС 42-2732-96) и сухого экстракта зверобоя (ВФС 42-2733-96). Препарат оригинальный, аналогов не имеет, в зарубежных фармакопеях не описан.

При разработке таблеток выбор вспомогательных веществ осуществляли с учетом оценки качества и биодоступности таблеток методами *in vitro*, такими как распадаемость, прочность, истираемость.

В результате исследований было установлено, что в состав таблеток сибектана целесообразно ввести в качестве вспомогательных веществ лактозу, крахмал картофельный, аэросил и стеарат магния. Крахмал выполняет роль связующего и разрыхлителя. Введение лактозы необходимо для улучшения прессуемости экстрактов и значительного снижения гигроскопичности таблеточной массы, достигаемого сочетанием молочного сахара с аэросилом. Кроме того, аэросил заметно улучшает распадаемость таблеток. В качестве антифрикционного вещества введен стеарат магния.

Учитывая физико-химические свойства сухих экстрактов, такие как гигроскопичность, комкуемость, низкая сыпучесть и прессуемость, небольшая удельная поверхность, применение традиционных методов получения пероральной лекарственной формы было неприемлемо.

Применение экономически эффективного метода прямого прессования в данном случае невозможно, т.к. сухие экстракты имеют практически нулевую прессуемость и низкую сыпучесть, не обеспечивающую точность дозирования таблетлируемой массы.

Для повышения сыпучести нами использовался метод влажной грануляции. Прямое воздействие водным раствором увлажнителя на массу, представляющую собой смесь сухих экстрактов с вспомогательными веществами, не всегда возможно. При этом часто получают липкие массы, не поддающиеся грануляции.

В тоже время, применение в качестве увлажнителей органических растворителей нежелательно, т.к. в этом случае необходима их утилизация.

В данном случае, с целью уменьшения гигроскопичности экстрактов, нами был применен метод дробного введения смеси биологически активных веществ с аэросилом в таблеточную массу. Для этого влажные гранулы, содержащие часть смеси экстрактов с аэросилом, вводятся в оставшееся количество смеси экстрактов. Однородная масса высушивается и после грануляции опудривается смесью подсушенного крахмала со стеаратом магния.

По разработанной технологии были изготовлены 5 экспериментальных серий таблеток сибектана 0,1 г. Оценку качества таблеток проводили согласно требованиям проекта фармстатьи и ГФ Х1 издания, выпуск 2, с.154.

Таблетки сибектана двояковыпуклой формы от серовато-зеленого до темно-серого цвета, с вкраплениями. По внешнему виду должны соответствовать требованиям ГФ Х, вып. 2, с.154. Типо-размер таблеток соответствует ОСТ 64-072-89.

Цвет таблеток обусловлен окраской входящих в него компонентов:

танецехол - аморфный порошок от желтого или серовато-желтого с зеленоватым оттенком до коричневого цвета, со специфическим запахом, гигроскопичен, комкуется;

силимар - аморфный порошок от серовато-желтого до светло-коричневого цвета, без запаха, электризуется;

экстракт зверобоя сухой - аморфный порошок от коричневого до темно-коричневого с красноватым оттенком цвета, со специфическим запахом, гигроскопичен, комкуется;

экстракт березы сухой - аморфный порошок от желтовато-зеленого до желто-коричневого цвета, со специфическим запахом, гигроскопичен, комкуется.

Основными действующими веществами компонентов таблетки сибектан являются: в силимаре - сумма флаволигнанов; в экстракте зверобоя - сумма флавоноидов; в экстракте березы - сумма флавоноидов, в танацехоле - сумма флавоноидов и фенолкарбоновых кислот.

На основании этого разработана цветная реакция с металлическим магнием в кислой среде, при этом появляется окраска темно-пурпурно-красного цвета, характерная для данных соединений. Однако, использование обычных качественных реакций, основанных на химических свойствах отдельных веществ, в данном случае не позволяет сделать вывод о наличии всех компонентов. При разработке раздела "Подлинность" изучалась возможность использования спектрофотометрии и хроматографии. В УФ-свете водно-спиртового извлечения таблеток сибектана (рис.1) имеется два максимума поглощения: первый при $\lambda=288$ нм (флаволигнаны) и второй, размытый, при $\lambda=330$ нм (флавоноидные соединения). Таким образом, с помощью УФ-спектра (по положению полос поглощения и их интенсивности) можно сделать заключение о подлинности данных таблеток.

После изучения хроматографического поведения водно-спиртового извлечения таблеток сибектана и его отдельных компонентов предложена хроматография в тонком слое силикагеля на пластинках Силуфол в системе растворителей: этилацетат - уксусная кислота - вода (20:4:1). В данных условиях хроматографического разделения водно-спиртового извлечения таблеток сибектана на хроматограмме появляются шесть основных зон, по которым можно идентифицировать не только подлинность таблеток, но и их качественный состав.

В результате проведенных исследований, в раздел "Подлинность" включена цветная реакция с металлическим магнием в кислой среде и ТСХ водно-спиртового извлечения таблеток.

Согласно действующей нормативной документации на отдельные компоненты, входящие в состав таблеток, их стандартизация (количественное определение) проводится с помощью УФ-спектроскопии. На основании этого, для количественного определения суммы фенольных соединений в таблетках сибектана рекомендована УФ-спектроскопия.

УФ-спектр водно-спиртового извлечения таблеток, как указано выше, имеет два максимума поглощения: $\lambda=288$ нм и $\lambda=330$ нм, которые обусловлены фенольными соединения-

ми, входящими в состав отдельных компонентов. Вклад отдельных компонентов таблетки в оптическую плотность в максимуме при длине волны $\lambda=288$ нм составляет: сумма флавоноидов и фенолкарбоновых кислот танацехола - 34 %, фенольные соединения силимара - 52 %, сумма флавоноидов экстракта зверобоя - 7 %, сумма флавоноидов экстракта березы - 7 %; при длине волны $\lambda=330$ нм соответственно: танацехол - 60 %, силимар - 27 %, экстракт зверобоя - 7 %, экстракт березы - 5 % (рис.1).

Наполнители, входящие в состав таблеток, в данной области спектров поглощения практически не имеют.

Таким образом, УФ-спектроскопию можно использовать для прямого определения суммы фенольных соединений в таблетках сибектана.

В процессе разработки методики в качестве аналитической длины волны выбран максимум при 288 нм, а расчет содержания действующих веществ рекомендуется проводить в пересчете на силибин.

При данной длине волны водно-спиртовые извлечения таблеток сибектана подчиняются основному закону поглощения света. Извлечение действующих веществ из порошка растертых таблеток происходит полностью в течение 45 минут.

Метрологические характеристики методики получены из результатов определения содержания суммы фенольных соединений в 11 независимых повторностях (таблица 1).

Таблица 1

Метрологическая характеристика методики количественного определения
суммы фенольных соединений в пересчете на силибин

f	\bar{x}	S	P, %	t (P, f)	Δx	ε , %
10	0,0355	0,000493	95	2,23	0,001099	$\pm 3,1$

Опыты по определению содержания действующих веществ в искусственной смеси показали, что ошибка единичного определения находится в пределах ошибки методики.

Установлен срок годности для таблеток сибектана 3 года.

Таким образом разработан отечественный комплексный препарат — сибектан, обладающий гепатозащитным действием.

Sokolskaya T.A., Glyzin V.I., Kachalina T.V., Ohotnikova V.F., Tareeva N.V.,
Kiriyanov A.A.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

Sibektan — a complex phytohepatoprotector

There has been elaborated a complex phyto drug consisting of silimar, tanacehol and dried extracts of birch and St.- John's wort. and methods of its standartizing

А.Е. БУРОВА, О.А. КОНОВАЛОВА, Т.А. СОКОЛЬСКАЯ

ВИЛАР, Москва, Россия.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПРЕПАРАТА “РОТОКАН”

Препарат “Ротокан” – разработан Всероссийским институтом лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР). В настоящее время выпускается фармацевтической промышленностью и широко используется в медицинской практике. Препарат представляет собой смесь спиртовых экстрактов трех видов лекарственного растительного сырья (цветков ромашки, календулы и травы тысячелистника). Препарат обладает противовоспалительным, гемостатическим и улучшающим процессы регенерации слизистых оболочек действием. В стоматологической практике его применяют при воспалительных заболеваниях слизистой оболочки рта различной этиологии и пародонта (афтозный стоматит, пародонтоз, язвенно-некротический гингвостоматит). В гастроэнтерологии его применяют при эрозивно-язвенных поражениях желудка и двенадцатиперстной кишки, гастродуоденитах, хронических холециститах, а в проктологии при геморрое, проктитах и других заболеваниях. [4, 5, 6].

Широкое терапевтическое действие ротокана обусловлено наличием в нем комплекса биологически активных веществ (БАВ), относящихся к различным классам химических соединений, таких как сесквитерпеновые лактоны, тритерпеновые гликозиды, флавоноиды, полииновые соединения, кумарины, вещества основного характера, полисахариды, дубильные вещества и др. [1, 2, 3, 4, 5, 6].

До настоящего времени качество препарата регламентировалось ВФС 42-1640-96, срок действия которой истек в 1999 году. Согласно ВФС, оценку качества препарата проводили по сухому остатку, содержанию спирта, наличию тяжелых металлов, подлинности определению количественного содержания суммы БАВ (методом перманганометрии по сумме окисляемых веществ).

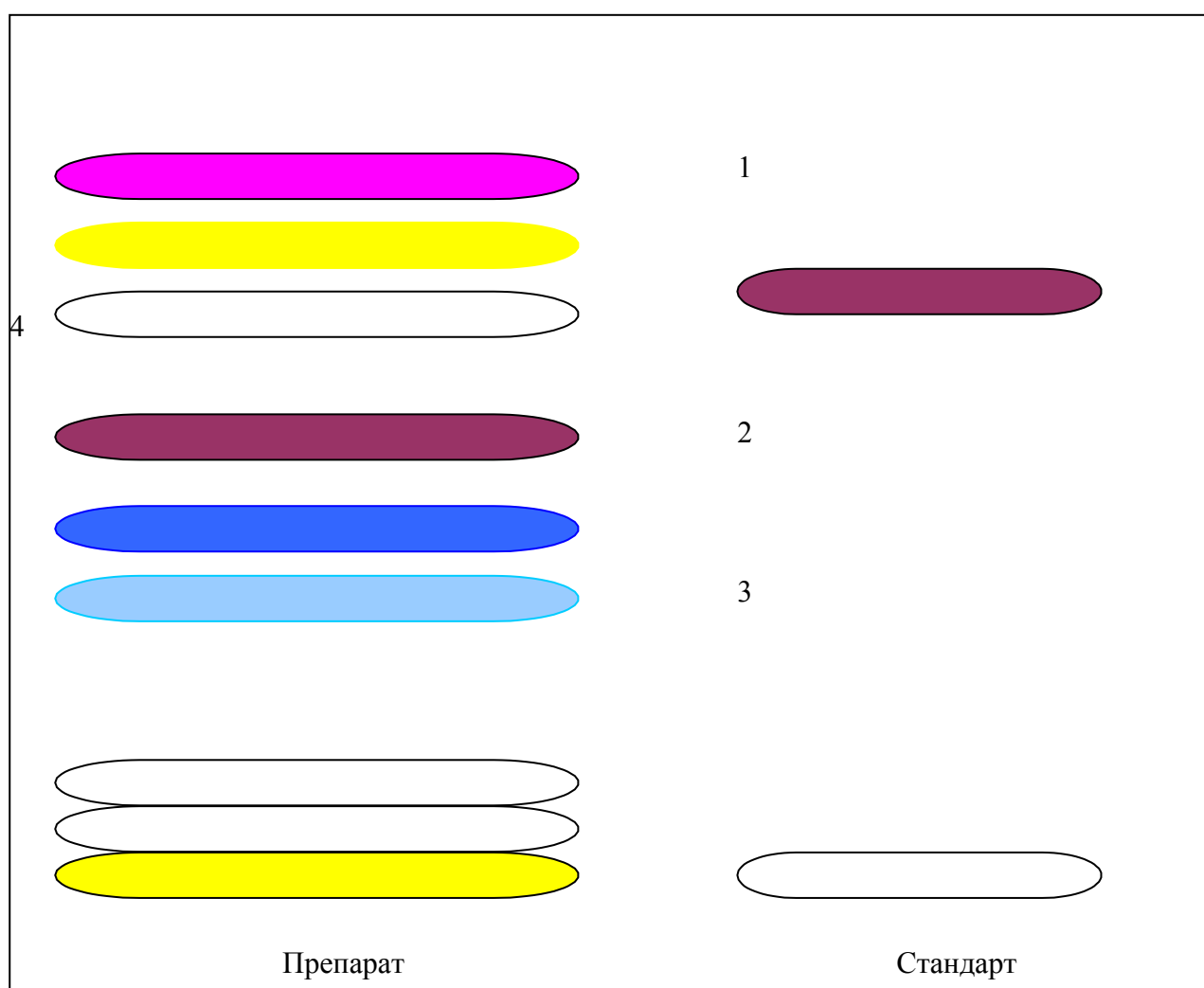
Подлинность препарата оценивалась качественными реакциями на наличие основных групп БАВ (сесквитерпеновые лактоны азуленового ряда, тритерпеноиды, флавоноиды, вещества основного характера и дубильные вещества).

В связи с окончанием срока годности НД на препарат нами была проведена работа по пересмотру ВФС 42-1640-96.

При пересмотре НД на препарат разработаны методики определения подлинности ротокана с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) и количественного определения суммы БАВ по содержанию суммы фенольных соединений. Эти методики, включенные в новую редакцию ФС на ротокан, отвечают современным требованиям Фармакологического Комитета.

Рисунок 1

Схема тонкослойной хроматограммы препарата “Ротокан”



Зона 1 - фиолетового цвета соответствует характеристической зоне экстракта ромашки; Зона 2 – коричневого цвета соответствует таковой зоне экстракта тысячелистника; Зона 3 – синего цвета соответствует характеристической зоне экстракта календулы; Зона 4 – коричневого цвета соответствует стандартному образцу Лютеолина.

Разработка методики ТСХ ротокана основана на сравнении зон сканирования в хроматограмме самого препарата с зонами сканирования в хроматограммах его компонентов (спиртовых экстрактов ромашки, календулы, тысячелистника). Предлагаемая методика заключается в нахождении трех характеристических зон сканирования, определяющих в препарате наличие всех компонентов, входящих в его состав.

Расположение характеристических зон в хроматограмме ротокана определено значениями R_s согласно требованиям ГФ XI [7], в качестве стандартного вещества используется Государственный стандартный образец (ГСО) лютеолина [9].

Методика ТСХ ротокана включает в себя следующее: 0,04 мл препарата, предварительно отфильтрованного через складчатый бумажный фильтр, с помощью микропипетки наносят полосой размером 5 см на линию старта хроматографической пластинки “Silufol” размером 15 x 15 см. Рядом на расстоянии 2 см наносят 0,02 мл 0,02% спиртового раствора лютеолина. Затем пластинку высушивают в сушильном шкафу при 100° С в течение 10 минут, после чего помещают в хроматографическую камеру (предварительное насыщение камеры не менее часа) со смесью растворителей толуол : этилацетат : муравьиная кислота в соотношении 5 : 3 : 1 и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей дойдет до конца пластинки, ее вынимают и сушат в течение 15 минут в вытяжном шкафу. Затем просматривают в Уф свете при длине волны 365 нм и отмечают три характеристические зоны сканирования в области хроматографирования препарата: зона 1 фиолетового цвета с R_s 1,13 – 1,19 (ромашка); зона 2 коричневого цвета с R_s 0,84 – 0,90 (тысячелистник); зона 3 синего цвета с R_s 0,78 – 0,84 (календула). (рис.1)

Для количественного определения суммы биологически активных веществ ротокана нами предложен спектрофотометрический метод, который основан на реакции окисления фосфорно – молибденовой кислотой (реактив Фолина) в слабощелочной среде. Предлагаемая методика заключается в проведении цветной реакции комплексообразования с суммой фенольных соединений агликонов, полученных после гидролиза соединений препарата. Полученные соединения имеют характеристический максимум поглощения в длинноволновой области спектра.

Таким образом, методика определения БАВ ротокана включает в себя следующее: около 2,0 г препарата помещают в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл 40% этилового спирта, перемешивают, затем приливают 10 мл 10% раствора серной кислоты и снова перемешивают. Затем раствор кипятят с обратным холодильником в течение 1 часа, колбу отсоединяют, раствор упаривают до поло-

вины объема для удаления спирта и охлаждают до комнатной температуры. Содержимое колбы перемешивают и фильтруют через складчатый бумажный фильтр диаметром 8 см до полного отделения фильтра. Колбу, в которой проводили гидролиз и осадок на фильтре промывают дистиллированной водой (около 300 мл) до нейтральной реакции по универсальному индикатору.

Осадок на фильтре экстрагируют горячим (60 ± 5 °C) 95% этиловым спиртом порциями по 10 мл (около 40 мл) в мерную колбу вместимостью 50 мл. Раствор охлаждают до комнатной температуры, доводят объем до метки 95% спиртом и перемешивают (раствор А).

1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, приливают 40 мл дистиллированной воды, затем 2 мл реактива Фолина и через 30 секунд 5 мл 20% раствора натрия карбоната. Объем доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают (раствор Б).

Раствор Б выдерживают при комнатной температуре 1 час, перемешивают и измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 745 нм в кювете толщиной слоя 10 мм.

Одновременно в тех же условиях измеряют оптическую плотность раствора ГСО лютеолина. Раствор стандарта с концентрацией 4×10^{-5} г/мл количественно готовят из точной навески лютеолина стандарта.

В качестве раствора сравнения используют раствор, приготовленный одновременно с испытуемым раствором, содержащий 2 мл реактива Фолина, 5 мл 20 % раствора натрия карбоната и доведенный водой до метки в мерной колбе вместимостью 50 мл.

Содержание суммы фенольных соединений в пересчете на лютеолин в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \times m_0 \times 50 \times 50 \times 100}{D_0 \times 2 \times 50 \times 50 \times 1} = \frac{D \times m_0 \times 50}{D_0 \times 2};$$

Где: D – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 - оптическая плотность рабочего раствора лютеолина стандарта;

m_0 – масса лютеолина стандарта в граммах.

Метрологические характеристики методики рассчитаны из результатов анализа одного образца сбора в 11 независимых повторностях (Таб. 1).

Таблица 1

Метрологические характеристики методики количественного

определения

f	X	S	P %	t (P: f)	X	E
10	0,1765	0,0008774	95	2,23	0,019568	+11%

Как видно из таблицы, ошибка единичного определения с 95% вероятностью составляет +11,09%.

Предлагаемые методики были апробированы на пяти промышленных сериях препарата ротокан. В проекте ФС на “Ротокан” рекомендуется установить норму по этому показателю не менее 0,15 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коновалова А. А., Рыбалко К. С. Биологически активные вещества ромашки аптечной. Растительные ресурсы, 1986, т. 18, вып. 1, с. 116 – 127.
2. Клышев Л.К., Бандюкова В. А., Алюкина Л.С. Флавоноиды растений, 1978, Алма – Ата, издательство “Наука Казахской ССР,... с.
3. Коновалова А.А., Рыбалко К.С., Биологически активные вещества календулы лекарственной. Растительные ресурсы, 1990, т. 26, вып. 3, с. 448 – 465.
4. Коновалов Д.А., Коновалова А.А., Челомбитко В.А. Биологически активные вещества тысячелистника тыквенного. Растительные ресурсы, 1990, т. 26, вып. 4, с. 598 – 608.
5. Задорожный А.М., Кошкин А.Г., Соколов С.Я., Шретер А.И. Справочник по лекарственным растениям, 1988, Москва, Изд-во “Лесная промышленность”, 412 с.
6. Растительные ресурсы СССР: цветковые растения, их химический состав, использования: Семейство *Asteraceae* (*Compositae*) – С.- П., издательство “ Наука “, 1993 г., вып. 7, с. 349.
7. Государственная Фармакопея СССР XI издание, М., издательство “Медицина”, 1981, вып. 1, с. 99.
8. Хроматография в тонких слоях. Под редакцией Э. Шталя, М., издательство “Мир”, 1965, с. 377 – 381.
9. Стандарт лютеолина ФС 42-2970-93

A.E. Burova, O.A. Konovalova, T.A. Sokolskaja.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

Standartization of “Rotokan”

Spectrophotometric method of phenolic compounds determination after the hydrolysis of “Rotocan” tincture has been proposed. The qualitative method of its determination is based on TLC.

ТАРЕЕВА Н.В., ОХОТНИКОВА В.Ф., КАЧАЛИНА Т.В., ГЛЫЗИН В.И.

ВИЛАР, Москва, Россия

КАЛАНХИН – ПРЕПАРАТ ИЗ ТЕПЛИЦЫ

Растения рода каланхое (*Kalanchoe*) – многолетние травянистые растения из сем. толстяковых (*Crassulaceae*) – культивируются в тропиках Африки, Южной Америки, на Мадагаскаре и др.

Каланхое перистое (*Kalanchoe pinnata Pers. Syn.*) возделывается в виде однолетней культуры в Аджарии и некоторых тепличных хозяйствах России.

Наряду с выпускаемым препаратом “Сок каланхое” в ВИЛАР разработан препарат – сухой сок каланхое с условным названием “Каланхин”. Сухой сок, как и все сухие экстракты, имеет преимущества при его получении, хранении, дозировании, транспортировке. Получение сухого сока каланхое связано с рациональным использованием свежего лекарственного сырья, т.к. при отжиме сока из свежих побегов каланхое в жоме остается до 50 % биологически активных веществ, поэтому целесообразно провести экстракцию действующих компонентов и из жома.

Установлено, что действующими веществами каланхое является комплекс веществ кислотного характера (органические кислоты), в том числе аминокислоты, полисахариды, флавоноиды, катехины, микроэлементы и др.). Наличием этих соединений в значительной мере обусловлено противовоспалительное и усиливающее регенерацию тканей действие. Проведен аминокислотный анализ и подтверждено наличие 12 аминокислот: аспарагиновая кислота, треонин, серин, глутаминовая кислота, глицин, аланин, валин, лейцин, фенилаланин, гистидин, изолейцин, аргинин; основные органические кислоты – яблочная, лимонная, щавелевая.

Отработанная технология производства каланхина позволяет получить препарат с содержанием БАВ в нативном состоянии, т.е. действующие вещества живого растения соответствуют БАВ сухого сока каланхое. Для получения каланхина используют свежие побеги каланхое, предварительно выдержанные в течение 7 суток в темном месте при температуре 5-10° С. Содержание действующих веществ в сырье 2,4 %.

Схема производства состоит из следующих стадий:

- отжим сока;
- экстракция жома;
- смешивание сока и водного экстракта;
- концентрирование объединенных сока и экстракта;
- очистка концентрированного продукта сепарированием;
- сушка очищенного продукта.

В результате проведенных исследований установлены: оптимальное соотношение сырье-экстрагент (1:7), температурный режим, время и количество проведенных экстракций.

В процессе отработки регламента на основании экспериментальных данных с использованием воды и водноспиртовых смесей установлено, что оптимальным экстрагентом является вода при соответствующем соотношении сырье-экстрагент. Температурный режим экстракции 40 ± 2 °C. Увеличение температуры нецелесообразно, т.к. выход действующих веществ не возрастает, но появляется возможность их разложения.

С целью ускорения процесса извлечения БАВ экстракцию сырья проводят в аппарате с мешалкой, т.к. перемешивание ведет к обновлению поверхности контактирующих фаз и к увеличению движущей силы процесса. Экстракцию повторяют дважды. При этом во время первого контакта жома с водой извлекается до 80 % от общего количества экстрактивных веществ.

Объединенный водный экстракт смешивают с соком, концентрируют в циркуляционном вакуум-выпарном аппарате.

Затем концентрированный кубовый остаток подвергается очистке методом сепарирования, при этом отделяются балластные вещества (хлорофиллы, смолы, пектины и другие неполярные соединения с большой молекулярной массой). Балластные вещества составляют 10-12% от объема концентрированного экстракта. Очищенный концентрат сушат на распылительной сушилке.

Выход готового продукта от начала технологического процесса составляет 70%. Содержание суммы органических кислот в исходном сырье каланхое перистого в пересчете на яблочную кислоту – 2,4%, в готовом продукте – до 60%..

В производственных условиях на ПЭЗ ВИЛАР был отработан опытно-промышленный регламент, проведены балансовые загрузки и наработана субстанция каланхина для изготовления лекарственных форм.

Для каланхина разработаны две лекарственные формы: гранулы и линимент 2 % и 5 %. Доклинические, фармакологические и токсикологические исследования препарата проведены сотрудниками ВИЛАР.

Лекарственная форма – гранулы каланхина разрешены Фармакологическим комитетом МЗ РФ в качестве противовосполительного и репаративного средства в комплексной терапии гастритов, гастродуоденитов, хронических энтероколитов и др.

Гранулы по сравнению с порошком имеют ряд преимуществ: улучшается сыпучесть, возможность точного дозирования, сохраняется однородный состав смеси. Кроме того, гранулы имеют привлекательный товарный вид, меньшую гигроскопичность, не раздражают дыхательные пути.

На основании экспериментальных данных отработана технология получения гранул каланхое и составлен опытно-промышленный регламент на их производство.

Технология получения гранул имеет следующие стадии:

- Просеивание ингредиентов.
- Смешивание компонентов
- Влажная грануляция
- Сухая грануляция
- Просеивание гранул
- Расфасовка гранул.

Выбор наполнителей проведен на основании получения удовлетворительных характеристик гранулятов. В качестве наполнителей были испытаны лактоза и сахар в различных соотношениях с субстанцией каланхина. Применение сахарозы приводило к увеличению количества мелких гранул (размер менее 0,2 мм). Поэтому в качестве наполнителя был выбран молочный сахар как наиболее индифферентное вещество.

На основании опытов в качестве связующего вещества для гранул была подобрана вода, т.к. действующие вещества каланхина растворимы в воде.

Правильность выбора технологии получения гранул подтверждена химическим анализом, технологическими, фармакологическими и токсикологическими исследованиями.

Разработанная лекформа – линимент каланхое 2 % и 5 % - после клинических испытаний рекомендована Фармакологическим комитетом МЗ РФ для лечения ожогов, отморожений, гнойных ран, трофических язв, пролежней и т.д., как ранозаживляющее средство.

Технология изготовления линимента 2 % и 5 %: смесь раствора каланхина и раствора сорбиновой кислоты в спирте вводят в жировую основу, эмульгируют, добавляют эвкалиптовое масло и вновь эмульгируют.

Разработаны методы химической стандартизации, которые базируются на качественном и количественном определении органических кислот в сырье, субстанции, при постановочном контроле и лекарственных формах (гранулы, линимент 2 % и 5 %).

Для качественного анализа разработан метод тонко-слойной хроматографии на пластинках “Силуфол” в системе растворителей 95 % этиловый спирт – концентрированный раствор аммиака (16 : 4,5). Для обнаружения органических кислот пластинки обрабатывают раствором бромкрезолового зеленого. На пластинках проявляется 4 пятна желтого цвета на бирюзовом фоне. Для проявления аминокислот используют раствор нингидрина.

Органические кислоты в растении и каланхине находятся в свободном и связанном состоянии, поэтому количественное определение суммы кислот было отработано с использованием метода ионно-обменной хроматографии с последующим титрованием 0,1 М раствором едкого натрия по бромтимоловому синему. В качестве ионно-обменника использовали катионит КУ-2-8.

Расчет содержания веществ кислотного характера в каланхине проводили в пересчете на яблочную кислоты.

Отсутствие систематической ошибки было доказано опытами с добавками яблочной кислоты.

Методы анализа лекарственных форм качественные и количественные унифицированы с методами анализа субстанции каланхина и сырья. Относительная ошибка определения при анализе субстанции – 2,83 %; гранул каланхое – 4,12 %; линимента – 4,28 %. Содержание суммы биологически активных кислотных соединений в пересчете на яблочную кислоту нормируется “не менее 45 %” в субстанции каланхина.

Помимо разработки препарата из сырья одного вида (побеги каланхое перистого) были обследованы коллекционные образцы других видов каланхое. Из представленных образцов получены сухие экстракты с различным содержанием БАВ. Данные представлены в таблице:

NN п/п	Образцы сырья	Влажность сырья, %	Содержание суммы кислот в сырье, %	Содержание суммы кислот в сухом соке, %
1	<i>Kalanchoe pinnata Pers. Syn.</i>	91,33	2,4331	28,0598
2	<i>Bryophyllum grandifolium Tent.</i>	93,88	2,1141	34,55
3	<i>Kalanchoe mocabica Hort.</i>	95,29	1,5332	32,59
4	<i>K. lugardii Bullock</i>	95,29	1,7968	38,15
5	<i>K. quillaumini Raymond-Ham</i>	95,11	2,1824	44,63

6	<i>K.longiflora Schlecht.</i>	91,69	1,9169	23,08
7	<i>K.tubiflora Hamet.</i>	94,94	2,0997	41,49
8	<i>K.brasilienses Cambess.</i>	93,95	1,8965	31,35
9	<i>K.laciniata DC.Pl.</i>	94,93	1,6461	32,47
10	<i>K.somalensis Hook.</i>	93,09	1,5263	22,09
11	<i>K.ambolensis Humbert</i>	92,96	1,3908	18,76
12	<i>K.lugardii Sp.</i>	91,49	1,9101	38,87
13	<i>K.delagoensis Echl.</i>	94,02	1,7702	42,01
14	<i>Bryophyllum scandens</i> <i>H.Perrier</i>	94,87	1,8843	36,69

N.V. Tareeva, V.F.Ohotnikova, T.V.Kachalina, V.I. Glysin

Calanchin – the medicine from the hothous

There has been elaborated the drug calanchin from sprouts of calanchoe and its applying forms (ready mode).

АЗАРКОВА А.Ф., ДАВЫДОВА В.Н., БУРОВА А.Е., КИРЬЯНОВ А.А., НЕСТЕРОВ Н.Н.

ВИЛАР, Москва, Россия

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ СУХОГО ЭКСТРАКТА АРНИКИ ОБЛИСТВЕННОЙ (*Arnica foliosa Nutt.*)

В ВИЛАРе были проведены исследования по технологии получения сухого экстракта арники облиственной. Фармакологическое изучение этого экстракта показало, что он обладает кровоостанавливающим, ранозаживляющим и противовоспалительным действием. Проведено качественное и количественное определение состава веществ, входящих в экстракт арники.

Данный экстракт был получен путем экстракции сырья водным спиртом, последующего концентрирования извлечения, очистки и сушки водного остатка в распылительной сушилке.

В качестве сырья использовали траву арники облиственной, выращенной на опытном участке ВИЛАРа и собранной в период массового цветения. Траву арники является новым видом растительного сырья. Ранее в его качестве использовали соцветия арники облиственной.

Экстракт арники сухой – аморфный порошок от серо-желтого до коричневого цвета, слегка комкуется, гигроскопичен. Растворим в воде и водном спирте.

Состав природных соединений экстракта был изучен путем селективного разделения его веществ и последующей идентификации. Для этого экстракт был фракционирован по методу избирательного извлечения группы веществ органическими растворителями. Водный раствор экстракта последовательно обрабатывали хлороформом, диэтиловым эфиром, этилацетатом и н-бутанолом. Полученные извлечения упаривали досуха, сушили до постоянной массы, взвешивали. Высушенные остатки фракций изучали на присутствие различных соединений с помощью диагностических реактивов, тонкослойной хроматографии (ТСХ), а также УФ- и ИК-спектроскопии.

При изучении хлороформной фракции были обнаружены сесквитерпеновые лактоны и кумарины. Липофильная фракция с 5 % раствором динитробензола в толуоле давала темнокоричневую окраску (сесквитерпеновые лактоны) [1]. Суммарные лактоны были выделены препаративно на пластинках Алуфол (20 x 20 см). Хроматографирование проводили в системе петролейный эфир-бензол-хлороформ-метанол (5:4:1:2). Детектирование зоны целевых веществ осуществляли, как описано в работе [2]. Вещества с сорбента элюировали хлороформом. Элюат фильтровали и упаривали досуха, остаток растворяли в капле хлороформа и снимали ИК-спектр в области $1700\text{--}1800\text{ см}^{-1}$. Наличие полосы поглощения при 1740 см^{-1} подтверждало присутствие сесквитерпеновых лактонов в экстракте арники [2,3].

Распределительной хроматографией на пластинках Силуфол в системе хлороформ-уксусная кислота-вода (4:1:1) обнаружили два кумарина R_f (0,66) и R_f (0,48). Эти вещества по положению на хроматограмме, флюоресценции в УФ₃₆₆ до и после проявления щелочью соответствовали скополетину и умбеллиферону [4,5]. ИК-спектр липофильной фракции, снятый в вазелиновом масле, имел поглощение в области $1700\text{--}1733\text{ см}^{-1}$, которое характерно для кумаринов (карбоксильная полоса сопряженного α -пирона). Находящаяся в спектре полоса поглощения при 1710 см^{-1} характерна для скополетина [3].

При исследовании эфирной фракции на Силуфоле в системе хлороформ-метанол (8:2), проявитель 20 % раствор серной кислоты были найдены следы лютеолина.

В этилацетатной фракции хроматографией на Силуфоле в системе хлороформ-этилацетат-муравьиная кислота- вода (20:50:5:45) обнаружили на уровне свидетелей хлорогеновую и кофейную кислоты, а также – следы феруловой кислоты. Пятна этих веществ в УФ₃₆₆ флюоресцировали голубым, а после проявления щелочью зеленовато-желтым цветом. При хроматографировании в системе хлороформ-метанол-вода (26:14:3) и обработке Силуфола 5 % спиртовым раствором хлорида алюминия было найдено четыре пятна веществ желтой ок-

раски, находившихся на хроматограмме в зоне монозидов. Два из них проявлялись на уровне пятен свидетелей цинарозида (лютеолин-7-глюкозид) и космосиина (апигенин-7-0-глюкозид), которые в УФ₃₆₆ флюоресцировали лимонно-желтым цветом. Два пятна других монозидов имели в УФ₃₆₆ желтовато-коричневую окраску [4].

В бутанольной фракции в тех же условиях ТСХ обнаружили в зоне биозидов один флавоноид, пятно которого на хроматограмме имело желтую окраску и в УФ₃₆₆ флюоресцировало лимонно-желтым цветом [4]. В этой же фракции были обнаружены дубильные вещества. Качественное определение этих веществ проводили с раствором железо-аммониевых квасцов. С данным реактивом бутанольная фракция давала черно-зеленое окрашивание, характерное для конденсированных дубильных веществ [6].

В водном остатке после извлечения н- бутанолом были найдены белки. Для их обнаружения использовали биуретовую реакцию, проводимую с 0,5 % раствором медного купороса в щелочной среде. По окрашиванию жидкости в фиолетово-синий цвет, благодаря пептидной связи (CO-NH-), судили о наличии этих соединений в экстракте арники [7]. Кроме того, водный остаток давал при нагревании с реактивом Фелинга кирпично-красный осадок, свидетельствующий о присутствии в экстракте свободных сахаров. Из него же были выделены высоко-молекулярные соединения – полисахариды. Для этой цели водный остаток очищали от белков 10 % раствором ацетата свинца по известному методу [8]. Из очищенного водного остатка путем осаждения метанолом была выделена фракция полисахаридов, растворимых в воде [4]. Моносахаридный состав этих веществ был подтвержден положительной реакцией Селиванова [7].

В сухом остатке после отделения полисахаридов и упарки метанола были обнаружены простые сахара и аминокислоты. При двух-кратном хроматографировании этого остатка на пластинках Силуфол в системе хлороформ-метанол-вода (61:32:7) на уровне свидетелей были найдены фруктоза, сахароза и следы глюкозы. В качестве проявителя использовали 20 % раствор серной кислоты с последующим нагреванием пластинки при температуре 100-110 °С до появления желто-бурых пятен. В тех же условиях хроматографирования данного остатка в системе этанол-аммиак (16:4,5) и опрыскивания пластинки 0,2 % ацетоновым раствором нингидрина было отмечено шесть розовых пятен аминокислот. Из них четыре пятна находились на уровне пятен свидетелей аспарагиновой и глютаминовой кислот, гистидина и цистина [4]. При этом значительно доминировали аспарагиновая и глютаминовая кислоты.

По массе сухих остатков судили о процентном соотношении отдельных классов веществ, входящих в экстракт арники. По данным фракционирования следует, что в экстракт арники сухой примерно входит: 3-5 % липофильных веществ (сесквитерпеновые лактоны,

кумарины и другие вещества); 30-35 % фенольных соединений (флавоноидные гликозиды, фенолкарбоновые кислоты и дубильные вещества); 20-25 % углеводов (полисахариды и простые сахара); 25-30 % азотосодержащих соединений (белки и аминокислоты) и 5 % других неизвестных веществ.

Для контроля качества сухого экстракта арники был разработан спектрофотометрический метод анализа суммы фенольных соединений, по которому их содержание в экстракте находилось в пределах 30 %.

В данном экстракте было также определено содержание суммы флавоноидов и дубильных веществ.

Количественное определение суммы флавоноидов проводили в пересчете на лютеолин [5]. Содержание этих веществ в экстракте составляет 3,8 %.

Анализ дубильных веществ в экстракте осуществляли по ГФ XI, содержание которых находилось на уровне 22 % [9].

Таким образом, химический состав веществ, входящих в экстракт арники облиственной, весьма разнообразен. Поэтому экстракт оказывает различное воздействие на организм. Кровоостанавливающее свойство экстракта объясняется присутствием сесквитерпеновых лактонов [1,2]. Противоязвенное действие могут обеспечить полисахариды [10]. Его ранозаживляющее действие, вероятнее всего, принадлежит фенольным соединениям, обладающим противовоспалительным свойством.

ЛИТЕРАТУРА

1. Willuhn G. und H.D. Herrmann/ Dunn –Schichtchromatographische Identifizierung der Arnikabluten und Arnikatinktur (DAB 7) and ihrer Sesquiterpene lactone, Pharm. Ztg., 123, 1803-1808, 1978.
2. Евстратова Р.И. Канд. дис. Химическое изучение сесквитерпеновых лактонов – биологически активных веществ из некоторых растений семейства сложноцветных, Москва, 1973.
3. Рыбалко К.С., Перельсон М.Е., Шретер А.И., Власов М.И., Губанов И.А, Пименов М.Г., Пименова М.Е., Новосельцева Н.П., Серебрякова А.А. Предварительная оценка растений семейства сложноцветных на содержание сесквитерпеновых лактонов, Аптечное дело № 5, с.37, 1965.
4. Марчишин С.М., Комиссаренко Н.Д. Компоненты *Arnica montana* и *Arnica foliosa*, ХПС, № 5, С. 662, 1981.
5. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Кн: Биологически активные вещества лекарственных растений. Новосибирск, изд. “Наука”, (с.294), 1990.

6. Гринкевич Н.И., Сафронич Л.Н. Химический анализ лекарственных растений, изд. "Высшая школа", М., (с. 175), 1983.
7. Степаненко Б.Н. Курс аналитической химии, М., (-с.3 50), 1974.
8. Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений. Ленинград, изд. Агропромиздат, (с. 430), 1987.
9. Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье. ГФХІ, т.1, с.286, 1984.
10. Тэрумо К.К. Полисахарид и способ его получения. Пат. № 53330, Япония, 1984.

Azarkova A.F., Davydova V.N., Burova A.E., Kir'yanov A.A., Nesterov N.N.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

Chemical Composition Study of Dry Extract of *Arnica foliosa* Nutt.

Dry extract of *Arnica foliosa* Nutt. has been found to contain phenolic compounds, coumarins, sesquiterpenoids lactones, carbohydrides and aminoacids.

БОГАЧЕВА Н.Г., КОКУШКИНА Н.П., СОКОЛЬСКАЯ Т.А.

ВИЛАР, Москва, Россия

ТРАВА МАЛЬВЫ ЛЕСНОЙ – НОВІА ЛЕКАРСТВЕННОЕ СЫРЬЕ

Вопрос по созданию препаратов для лечения заболеваний верхних дыхательных путей (ОРЗ, бронхитов, ларингитов и др.) в современной медицине остается актуальным. С этой целью проведены исследования по изучению мальвы лесной.

Мальва лесная - *Malva sylvestris* L., сем. мальвовых - *Malvaceae* - однолетнее или многолетнее травянистое растение высотой до 120 см. Стебли прямостоячие, реже приподнимающиеся, ветвистые, опушенные или почти голые. Листья очередные длинночерешковые. Цветки крупные, до 40 мм в диаметре. Плод - плоская дисковидная семянка. Цветет в июне-сентябре [1,3].

В России и Ближнем зарубежье произрастает на юге и в средней полосе Европейской части, на Кавказе, в Крыму, Средней Азии, Сибири и на Дальнем Востоке [3,9].

Мальва лесная включена в фармакопеи ряда стран (Швейцария, Австрия и др.) [7].

Цветки и листья мальвы лесной входили в Российскую Фармакопею I-IV изданий в качестве мягчительного или обволакивающего средства [8].

В народной медицине мальва применяется в качестве мягчительного и противовоспалительного средства, при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, бронхите, ларингите [2-5].

В траве мальвы содержатся полисахариды до 10%, витамин С и каротин, в лепестках присутствуют гликозид мальвин и дигликозид мальвидин [1,3,6], которые используются в качестве красителей.

Исследования, проведенные в отделе фармакологии ВИЛАР, показали, что бронхолическая активность настоя мальвы превосходит активность настоя корней алтея. Это дало возможность рекомендовать траву в качестве официального лекарственного сырья для реализации населению через аптечную сеть наравне с корнями алтея.

Мальва лесная введена в культуру, имеет высокую сырьевую и семенную продуктивность. Заготовку сырья проводят механизированным способом, скашивая на определенном расстоянии от почвы. Все это позволяет заключить о перспективности получения данного вида сырья.

Для стандартизации травы мальвы проведены фармакогностические исследования, в лаборатории фитохимии разработан метод количественного определения действующих веществ – полисахаридов.

Установлена оптимальная фаза заготовки сырья - начало цветения.

По внешним признакам сырье представляет собой куски стеблей, цельные или частично измельченные листья, цветки, реже бутоны. Листья округлые, при основании сердцевидные, 5-7-лопастные, по краю городчато-зубчатые, длинночерешковые, с пальчатосетчатым жилкованием и сильно выступающими главными жилками с нижней стороны. Стебли округлые, слегка ребристые, полые, толщиной до 0,8 см. Цветки крупные, диаметром 35-40 мм на длинных цветоножках. Чашечка состоит из пяти, в нижней части сросшихся листочков; подчашие образовано двумя-тремя свободными листочками; венчик пятилепестный, в три или четыре раза превышает чашечку. Листья, стебли и чашечка опушенные. Лепестки 20-25 мм длины, обратнойцевидные, постепенно суживаются в ноготок, на верхушке глубоко-ковчегчатые.

Цвет листьев с верхней стороны зеленый, с нижней - серовато-зеленый, стеблей - светло-зеленый, цветков - темно-фиолетовый. Запах отсутствует. Вкус водного извлечения сладковатый с ощущением слизистости.

Качество сырья регламентируется 8-ю числовыми показателями: содержание суммы полисахаридов (не менее 7%), влажность (не более 13%), золы общей и золы, нерастворимой в 10% растворе кислоты хлористоводородной (не более 14% и 5% соответственно), листьев,

изменивших естественную окраску (не более 5%), стеблей (не более 55%), органической и минеральной примеси (не более 3% и 1% соответственно).

Основным показателем при определении подлинности сырья служат диагностические признаки анатомического строения. Проведенные исследования анатомического строения листа мальвы, *Alcea rosea* L., установить диагностические признаки (рис. 1): эпидермис листа с обеих сторон состоит из клеток с извилистыми стенками. Устьица многочисленные на обеих сторонах листа, крупные, овальные, окружены 5-6 (реже 3-8) околоустьичными клетками (аномоцитный тип). Поверхность листа с обеих сторон и по краю опушена волосками трех типов: простые, звездчатые и реже железистые. Простые волоски одноклеточные с толстыми стенками, широкой полостью и заостренной верхушкой, звездчатые, состоящие из 2-10 толстостенных лучей и железистые волоски с многоклеточной головкой на одноклеточной ножке. В мезофилле листа и вдоль жилок имеются многочисленные друзы оксалата кальция, вдоль жилок они иногда образуют цепочки.

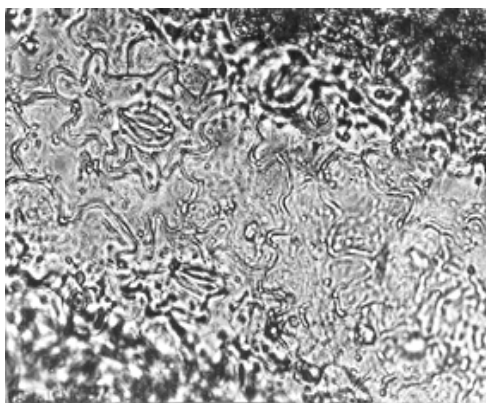


Рис. 1 Верхняя эпидермис листа мальвы (Ом. 200)

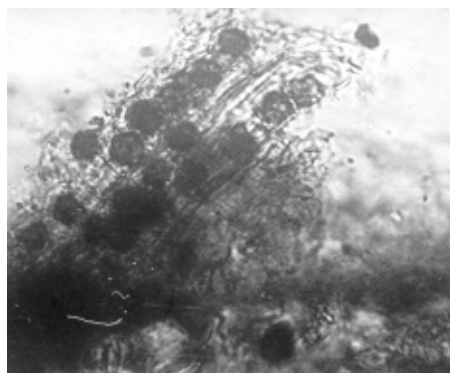


Рис. 2 Нижняя эпидермис листа мальвы (Ом. 200)

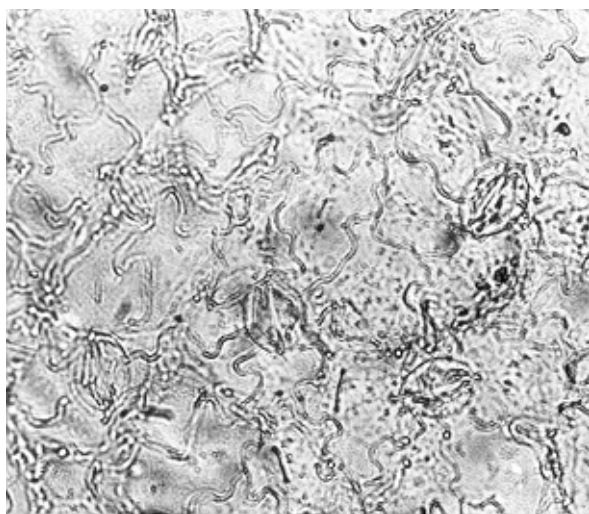


Рис. 3 Мезофилл листа мальвы (Ом. 320)

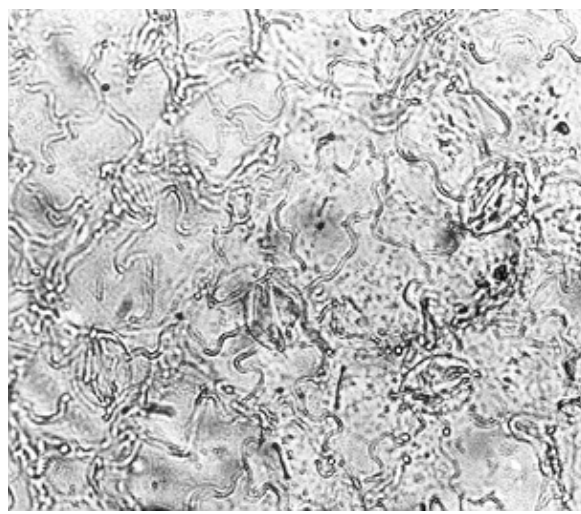


Рис. 4 Вязь листа мальвы (Ом. 320)

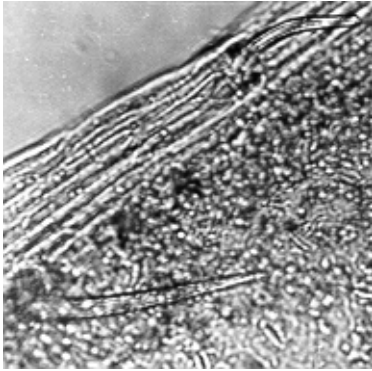


Рис. 4. Ткань стебля (Оа. $\times 100$)



Рис. 5. Гланды (Оа. $\times 200$)

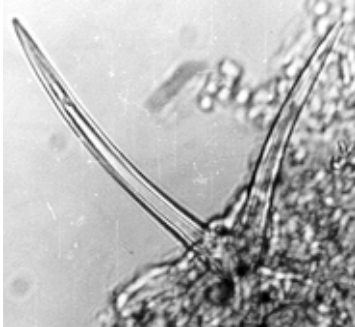


Рис. 6. Звездчатые волоски (Увел. $\times 200$)

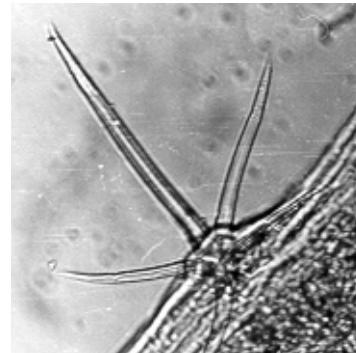
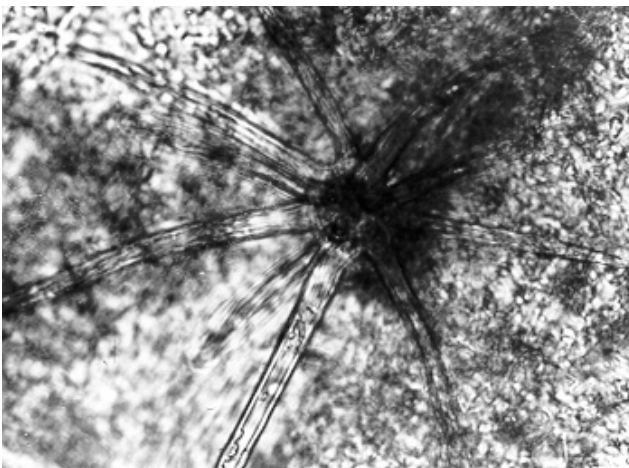


Рис. 6. Звездчатые волоски (Увел. $\times 200$)

Таким образом, проведенные исследования по изучению анатомического строения и качества травы мальвы лесной позволяют идентифицировать и стандартизировать ее, а также внедрить в медицинскую практику в качестве официального лекарственного сырья, а в дальнейшем использовать как сырье для производства препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Флора СССР, т. XV, 1949, с. 41.

2. Лекарственные растения в научной и народной медицине. Саратов, изд. 5, 1978, с. 161.
3. Атлас лекарственных растений СССР. М., 1962, с. 406.
4. F.Dorfler, G.Roselt. Unsere Heilpflanzen. Leipzig etc., 1970, p. 492.
5. I.L.Hartwe I.L. Plants used ageinst cancar. - Lloydia, 1971, v. 34, № 4, p. 386; № 2, p. 204.
6. Растительное сырье СССР, т. II, изд. АН СССР, М.-Л., 1957, с. 42.
7. The Pharmacopoea Helvetica editio sexta, v. 1, v. 2, p. 567, 609.
8. Г.К.Шретер. Лекарственные растения и растительное сырье, включенные в отечественные фармакопеи. М., 1972, с. 119.
9. Х.Х.Халматов. Дикорастущие лекарственные растения Узбекистана. Ташкент, 1964, с. 249.
10. А.Л.Тахтаджян. Система и филогения цветковых растений. М.-Л., "Наука", 1966, с. 251.

Bogacheva N.G., Kokushkina N.P., Sokol'skaya T.A.

All-Russian Reseach Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

***MALVA SYLVESTRIS* – NEW CRUDE DRUG**

A study of quality control, anatomical structure and the standartization of new herbal sourse *malva sylvestris* are discussed in the work.

Н.Г.БОГАЧЕВА, О.Г.АЛЕНТЬЕВА, Е.А.КОНЯЕВА

ВИЛАР, Москва, Россия

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ ИЗ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ

Эхинацея пурпурная хорошо известное и широко применяемое лекарственное растение. За рубежом препараты, получаемые из эхинацеи, применяются в основном как иммуностимулирующие средства при гриппозных инфекциях, хронических прогрессирующих воспалениях, лейкозах, диабете и как воспалительное средство при лечении злокачественных новообразований. Известно также, что эхинацея и препараты из нее обладают бактерицидными свойствами, кровоостанавливающим и ранозаживляющим действием. Коренным населением Северной Америки корни эхинацеи использовались как противоядие при укусах ядовитых змей [1-4].

В нашей стране эхинацея пурпурная также нашла широкое применение. Из травы эхинацеи пурпурной выпускается препарат эстифан, представляющий собой сухой экстракт, применяемый в качестве иммуностимулирующего средства для лечения и профилактики заболеваний, связанных с иммунодефицитными состояниями при хронических рецидивирующих заболеваниях воспалительного характера, в случаях неэффективности или недостаточной эффективности антибактериальной и противовоспалительной терапии. Настойка свежих корневищ с корнями эхинацеи пурпурной входила в состав отечественных препаратов ангиноль и эхинор [4,5]. В настоящее время корневища с корнями эхинацеи пурпурной используют для получения комплексного препарата простанорм. Простанорм в виде жидкого экстракта, получаемого из травы зверобоя, травы золотарника канадского, корней солодки и корневищ с корнями эхинацеи пурпурной, применяется у взрослых в комплексной терапии хронического неспецифического простатита.

Эхинацея пурпурная - *Echinacea purpurea* (L.) Moench. (син. *Rudbeckia purpurea* L.) сем. астровых - *Asteraceae* - многолетнее травянистое растение 50-100 (180) см высоты с коротким многоглавым корневищем, усаженным многочисленными тонкими корнями. Стебель прямой, разветвленный, округлый в поперечном сечении, ребристый, голый или рассеянно жесткоопушенный. Листья шероховатые от коротко щетинистого опушения, жесткие, неравнокрупнозубчатые, иногда цельнокрайние. Розеточные листья продолговато-яйцевидные с оттянутой верхушкой, 7-25 см длины, длинночерешковые, на нижней стороне с пятью сильновыступающими жилками; стеблевые - постепенно уменьшающиеся к верхушке стебля, 5-15 (20) см длины и 2,5-7,5 (8) см ширины, очередные, черешковые, ланцетные, яйцевидно-ланцетные или продолговато-яйцевидные, остроконечные, с тремя хорошо выраженными жилками. Соцветия - одиночные корзинки, расположенные на длинных неветвистых цветоносах. Плод - четырехгранная серовато-бурая семянка, 4-6 мм длины, к основанию суженная, наверху с хохолком в виде короны с равномерными зубчиками. Цветет с июля до осени, плодоносит в августе-сентябре. Родина растения - Северная Америка [1-4, 6-8].

В результате проведенных ранее исследований эхинацея пурпурная введена в культуру в Среднем Поволжье и южных районах России посевом семян в грунт [3]. Корневища с корнями эхинацеи пурпурной заготавливают на 3-4 году жизни растения, до этого плантации используют для производства травы эхинацеи. После заготовки корневищ плантация уничтожается и производится закладка новой.

Согласно данным литературы в различных органах эхинацеи пурпурной содержатся эфирное масло, флавоноиды (производные кверцетина, кемпферола и изорамнетина), полисахариды (рамноза, арабиноза, ксилоза, манноза и галактуроновая кислота), алкалоиды, производные оксикоричных кислот, глюкопротеиды и другие соединения [2].

Препарат эстифан разрешен к медицинскому применению в 1994 г. и соответственно в том же году утверждена ВФС 42-2371-94 на траву эхинацеи пурпурной [8]. В 1995 г. на корневища с корнями эхинацеи пурпурной разработаны и введены в действие ТУ 64-4-122-95 для производства препарата простанорм [9]. Эти нормативные документы (НД) разработаны впервые с целью стандартизации качества новых видов сырья. В 2000 г. трава эхинацеи пурпурной зарегистрирована Минздравом РФ в качестве биологически активной добавки как общеукрепляющее и иммуностимулирующее средство при различных заболеваниях

(№ 001595 Р. 643.04.2000). На основании этого можно говорить о комплексном использовании эхинацеи пурпурной в качестве лекарственного растительного сырья.

Разработанные нормативные документы (ВФС и ТУ) позволяют осуществлять контроль качества травы и корневищ с корнями эхинацеи пурпурной [8,9].

Трава эхинацеи пурпурной по внешним признакам представляет собой куски стеблей, листьев, цельные и частично разрушенные цветочные корзинки, цветки, бутоны, реже незрелые плоды, а корневища с корнями - цельные или разрезанные на куски корневища с боковыми корнями и отдельные корни. В НД описаны основные морфологические признаки данных видов сырья и их органолептические свойства.

Для характеристики их качества разработаны следующие числовые показатели и их нормы:

травы эхинацеи пурпурной - суммы производных оксикоричных кислот в пересчете на цикориевую кислоту не менее 2,1%; влажность не более 13%; золы общей не более 12%; стеблей не более 55%; органической примеси не более 2,5%; минеральной примеси не более 1%;

корневищ с корнями эхинацеи пурпурной - суммы производных оксикоричных кислот в пересчете на цикориевую кислоту не менее 1,5%; влажность не более 13%; золы общей не более 14%. В сырье ограничивается содержание надземных частей, в том числе отделенных при анализе, не более 15%; органической примеси не более 1% и минеральной примеси не более 5%.

Для определения подлинности сырья приведена качественная реакция на фенольные соединения: в траве - с раствором железа окисного хлорида, в корневищах с корнями - с железоаммонийными квасцами. Для травы эхинацеи также приведен УФ-спектр, характерный для оксикоричных кислот.

Стандартизацию действующих веществ, одними из которых являются оксикоричные кислоты, проводят спектрофотометрическим методом.

Нами было проведено исследование анатомического строения видов сырья эхинацеи пурпурной с целью выявления его диагностических признаков. Для определения подлинности сырья в НД приведены основные диагностические признаки анатомического строения травы и корневищ с корнями эхинацеи пурпурной, установленные в процессе исследований, с учетом данных литературы [2, 10-12].

В процессе изучения анатомического строения листа эхинацеи пурпурной установлено, что клетки эпидермиса имеют извилистые стенки. Устьица овальные, окружены 2-6 околоустьичными клетками (аномоцитный тип), расположены на обеих сторонах листа, на нижней их больше. Клетки эпидермиса над жилками вытянутые и имеют прямые стенки. По жилкам и по краю листа встречаются волоски разного вида: простые длинные одноклеточные волоски, простые 2-4-клеточные волоски, у которых стенки конечной клетки спадаются и очень часто эти клетки опадают. Также встречаются простые 1-4 клеточные волоски, у которых иногда видно заметное утолщение клеточных стенок. Изредка встречаются железистые волоски на 1-2-клеточной ножке с овальной одноклеточной головкой, заполненной желтовато-бурым содержимым. Клетки у основания волосков расположены радиально и образуют розетку (Рис. 1).

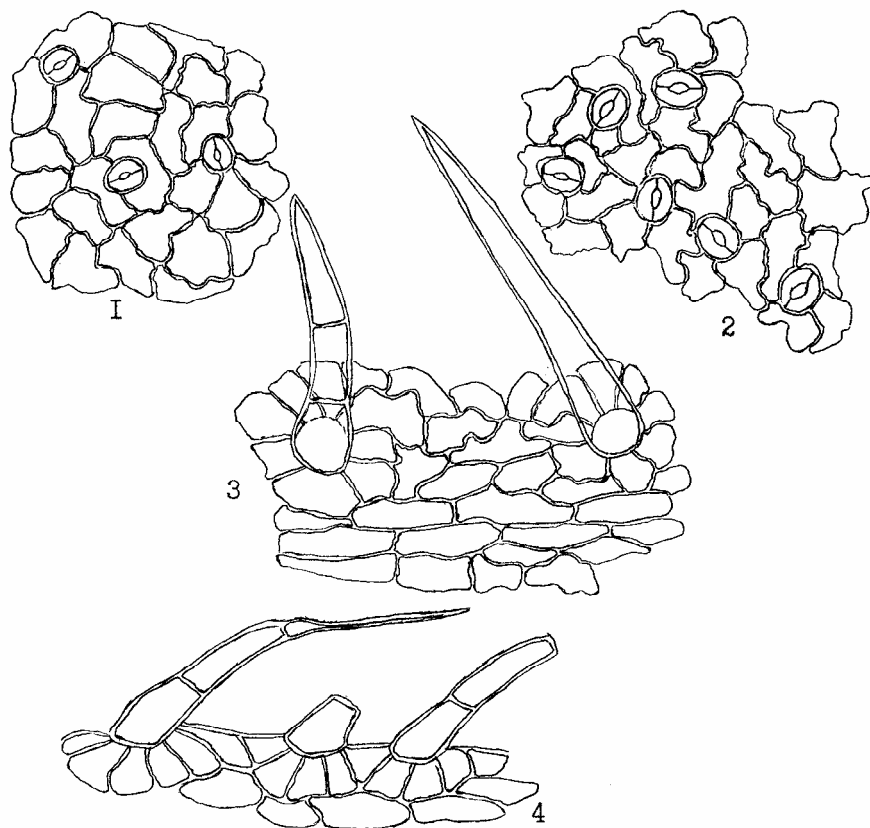


Рис. 1. Диагностические признаки анатомического строения травы эхинацеи пурпурной (увеличение x280).

- 1- эпидермис верхней стороны листа
- 2 - эпидермис нижней стороны листа
- 3 - волоски по жилке
- 4 - волоски по краю листа.

При изучении анатомического строения корня эхинацеи пурпурной на поперечном срезе виден тонкий слой пробки. Первичная кора состоит из крупных овальных или округлых клеток паренхимы. В первичной коре видныместилища с эфирным маслом красновато-оранжевого цвета; изредка встречаются одиночные каменистые клетки. Клетки эндодермы коры квадратные или закругленные. Во вторичной коре заметны участки луба, состоящие из мелких клеток, расположенных отдельными группами. Камбиальная зона хорошо выражена. В древесине сосуды крупные, расположены веретенообразно. Склеренхима занимает большую часть древесины корня. В древесине встречаются сосуды, содержащие смолу желтовато- или красновато-оранжевого цвета, расположенные одиночно или группами (Рис. 2,3).

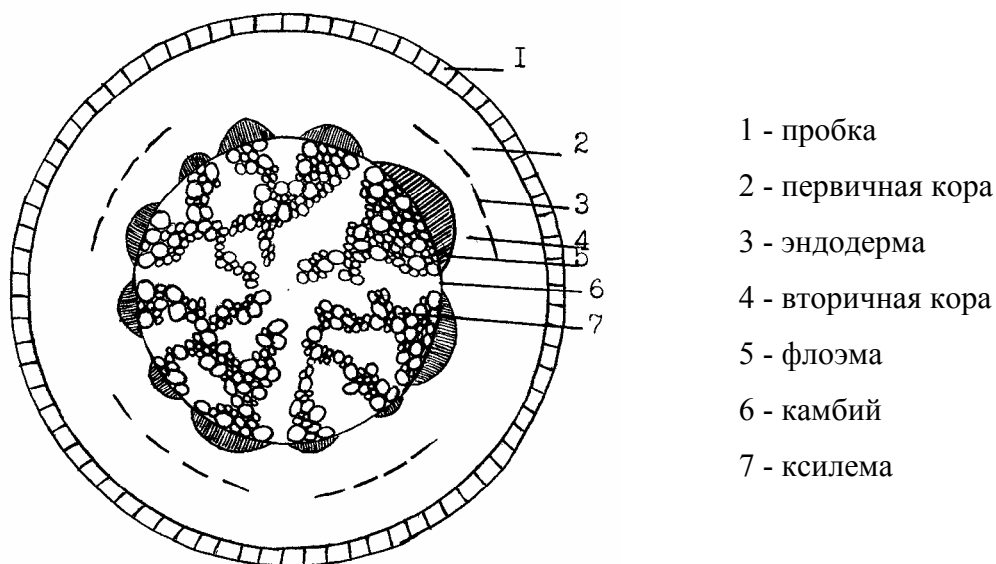


Рис. 2. Схема поперечного среза корня.

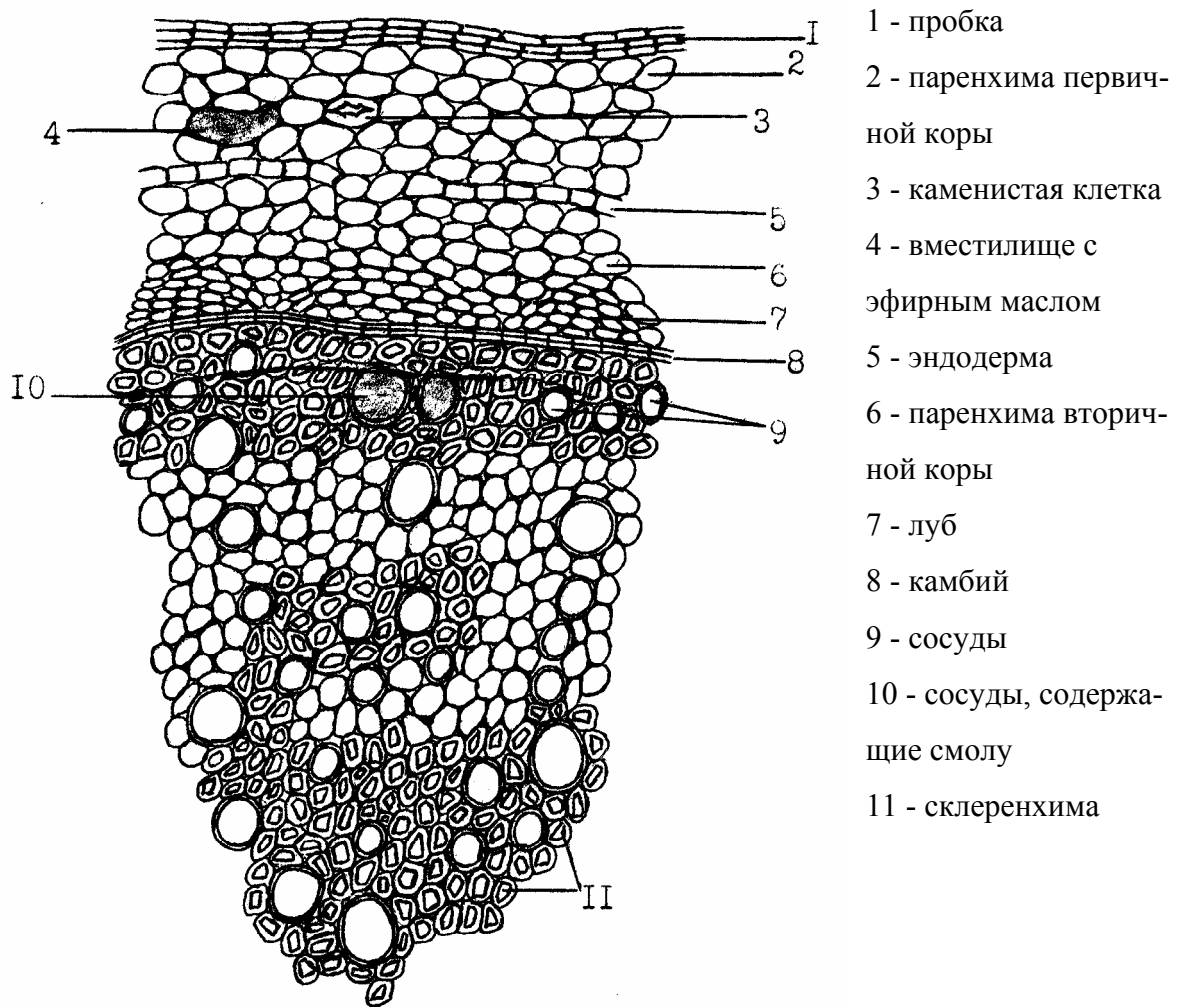


Рис. 3. Поперечный срез корня (увеличение x200).

Разработанные и введенные в действие нормативные документы на траву эхинацеи пурпурной (ВФС 42-2371-94) и корневища с корнями эхинацеи пурпурной (ТУ 64-4-122-95) позволяют полностью использовать все растение эхинацеи в качестве лекарственного растительного сырья для производства препаратов. Приведенные выше диагностические признаки анатомического строения сырья, установленные в ходе исследований при разработке НД, используют для диагностики этих видов сырья с целью установления подлинности.

ЛИТЕРАТУРА

1. D. Ennet. Bi-Lexikon "Heilpflanzen und Drogen". VEB Bibliographisches institut, Leipzig, 1990, s. 154-155.
2. R. Bauer, H. Wagner. Echinacea. Handbuch für Ärzte, Apotheker und andere Naturwissenschaftler. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges., 1990.
3. С.Е. Землинский. Лекарственные растения СССР. Медгиз, 1958, с. 557.

4. Интродукция лекарственных, ароматических и технических растений. М.-Л., "Наука", 1965, с. 72-73.
5. ФС 42-58-72 Корневище с корнями эхинацеи пурпурной свежее.
6. И.Г. Васильченко. Род Эхинацея - *Echinacea Moench*. /В кн. Флора СССР. Изд-во АН СССР, т. 25, 1959, с. 540-541.
7. Атлас лекарственных растений СССР. М., 1962, с. 662-663.
8. ВФС 42-2371-94 Трава эхинацеи пурпурной.
9. ТУ 64-4-122-95 Корневища с корнями эхинацеи пурпурной.
10. L. Muntean, M.Tamas. Specii de Echinacea de perspectiva in Romania. Herba Romanica, Bucharesti, 1989, 9, p. 79-85.
11. G.R.Heibl, R. Bauer, H.Wagner. Morphologische und anatomische studion an Echinacea purpurea, E. angustifolia, E. pallida und Parthenium intergrifolium. Scienta Pharmaceutica. 1988, Bd. 56, Heft 3, p. 145-160.
12. Viorica Hodisan, M.Tamas. Studial farmakobotanie comporativ al speciilor Echinacea angustifolia Motnch. si E. purpurea (L.) Moench. Nota II. Morfologie und anatomie./ Farmacia (RSR), 1984, 32, № 4, p. 203-210.

N.G. Bogacheva, O.G. Alent'eva, E.A. Konyaeva

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

STANDARTIZATION OF ECHINACEA PURPUREA CRUDE DRUG

Quality control of Echinacea purpurea crude drug and its standartization for drug production are discussed.

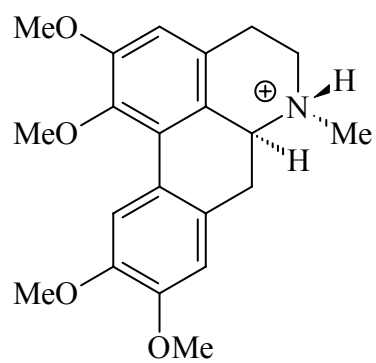
СЕРЕЖЕЧКИН А.Г., ЛАПА Г.Б., ШЕЙЧЕНКО В.И., ТОЛКАЧЕВ О.Н.

ВИЛАР, Москва, Россия

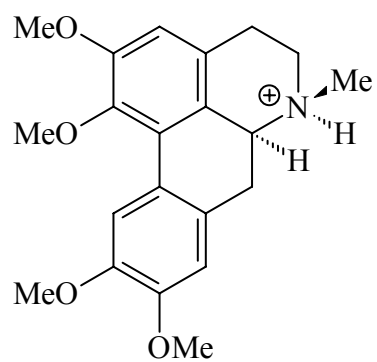
О СТЕРЕОХИМИИ N-ПРОТОНИРОВАНИЯ ГЛАУЦИНА

Глауцин (I) - алкалоид апорфинового ряда, гидрохлорид которого используется в Российской медицине в качестве противокашлевого средства при различных заболеваниях легких и верхних дыхательных путей [1-2]. Его производят из травы мачка желтого (*Glaucium flavum* L.) сем. *Papaveraceae* [3]. В Болгарии выпускается аналогичного действия препарат глаувент (глауцина гидробромид) [4]. Качество препарата, его лекарственных форм и растительного сырья оцениваются методами ТСХ, спектрофотометрически, ГЖХ и другими методами, причем определение образцов алкалоидов ведется в виде оснований [2, 5]. В процессе изучения качества производственных партий субстанции глауцина гидрохлорида нами ис-

[illegible]



Ia



Ib

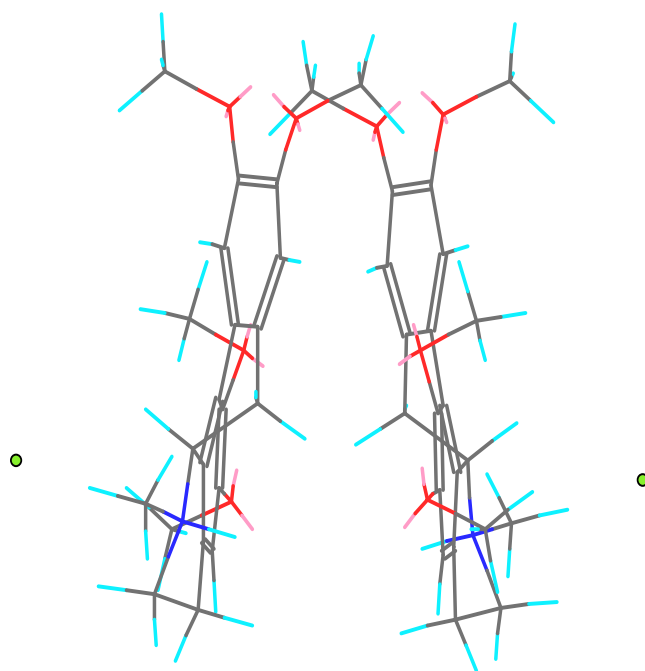


Рис.1. Компьютерная модель димерного ассоциата молекул (+)-глауцина гидрохлорида (N^+H-H^{6a} -cis).

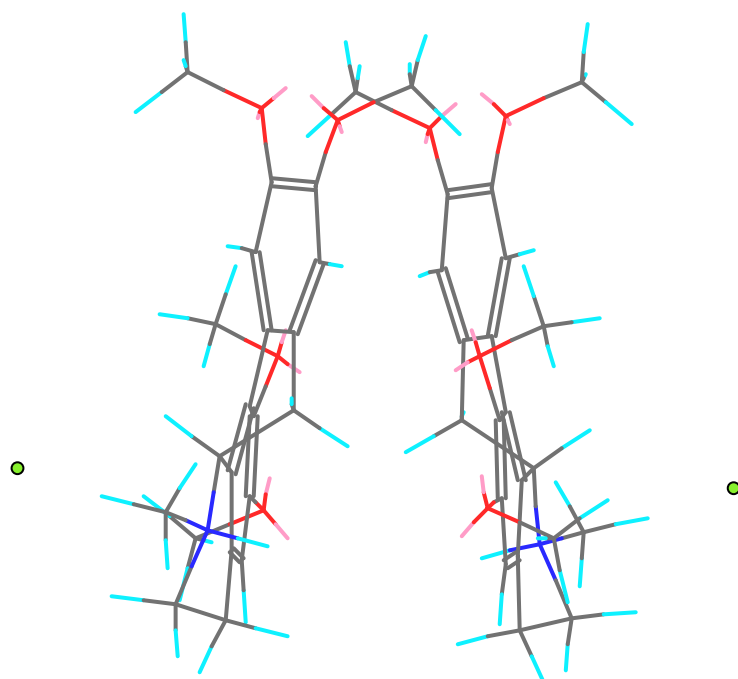


Рис. 2. Компьютерная модель димерного ассоциата молекул (+)-глауцина гидрохлорида гидрата ($\text{N}^+\text{H}-\text{C}^{6a}-\text{H-trans}$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Щавлинский А.Н., Мартынова Р.Г. (1985). Новые лекарственные средства растительного происхождения. Проспект. Минмедпром, ЦБНТИ.– С. 6-7.
2. Фарматека. Приложение 6/96. – С. 40.
3. Захаров В.П., Либизов Н.И., Асланов Х.А. (1980). Лекарственные вещества из растений и способы их производства. ФАН, Ташкент Уз ССР.– С. 111-115.
4. Ключев М.А., Бабаян Э.А. (Ред.). (1979). Лекарственные препараты, разрешенные к применению в СССР. Москва, Медицина. – С. 62.
5. Компанцева Е.В., Толкачев О.Н., Ботезат-Белый Ю.К., Кудрин С.А., Клочков С.В., Маркова О.М., Тумбов В.Г., Ладанова А.А., Мочалова Н.Л. (1989). Количественное определение глауцина методом ГЖХ. Химико-фармацевтический журнал.– Т. 23(9). – С. 1116-1120.

Serezhechkin A.G., Lapa G.B., Sheichenko V.I., Tolkachev O.N.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

STEREOCHEMISTRY OF GLAUCINE N-PROTONATION

There has been shown that commercially produced glaucine hydrochloride is a mixture of stereoisomeric salts in a ratio 1:3. In aqueous solutions both are inclined to form dimeric associates. Possible reasons of stereoselectivity of N-protonation are discussed.

РЕЗЦОВА Н.А., СКЛЯР Ю.Е., ТОЛКАЧЕВ О.Н., ГЛАЗОВА Н.Г., САКОВИЧ Г.С.,

КОЛХИР В.К.

ВИЛАР, Москва, Россия

**РЕГИОСЕЛЕКТИВНОСТЬ РЕАКЦИИ РАСЩЕПЛЕНИЯ ИОДМЕТИЛАТА
ГЛАУЦИНА ПО ГОФМАНУ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ N-МЕТИЛ-ДЕС-
ГЛАУЦИНА**

Апорфиновый алкалоид глауцина гидрохлорид (I) (ÐĩññèŸ) ё его гидробромид (глау-
вент, Болгария) используются в медицине в качестве противокашлевого средства [1].
Àèèàèìèàû ýòìãì òèìà ìðããñòàãèŸò èìòãðãñ è èàè ìðãìàðàòù ðãçìííàðãçíé àèðèãíñòè, ìãìðèìãð,
ìðìðèãñìíóðìèããùò è äðóãèð [2-3], à òàèæã ìðè ìðìããããìèè ìãìðããèãííé ðèè÷ãñéè ððãíñòìðìàòèè

[illegible]

Одним из методов получения подобных соединений является реакция Гофмана, которая широко использовалась в классической органической химии при установлении строения алкалоидов [4]. Из литературных данных следует, что при расщеплении четвертичных аммониевых производных по Гофману на первой стадии образуются смеси двух изомерных дес-оснований типа А и В (метин и изометин), как конкурентный процесс [5-7].

Анализ литературы показывает, что при расщеплении N-метил-дес-глауцина (I), t_m. 117-119°C, превращено в иодметилат (II), t_m. 220-222°C (соль йода), который в присутствии йодида натрия (NaI) в этаноле при 60°C превращается в смесь дес-оснований (III, IV). Основания (III, IV) являются лабильными соединениями, легко окисляющимися на воздухе.

В процессе изучения условий расщепления иодметилата глауцина (II) по Гофману нами было найдено, что на соотношение продуктов деградации влияет, в значительной степени, характер растворителей, в которых проводилась реакция. Например, при реакции в воде и низшем алифатическом спирте (с NaOH) преобладающим продуктом реакции является ожидаемый изомер А (1-диметиламиноэтил-3,4,6,7-тетраметоксифенантрен) (III), образующийся вопреки правилу Гофмана, в то время как в трет-бутиловом спирте – изометин (1-винил-10-диметиламино-3,4,6,7-тетраметокси-9,10-дигидрофенантрен) (IV), который, в отличие от первого, содержит центр хиральности C¹⁰ и является оптически активным соединением. В последнем случае в небольшом количестве выделена также примесь нейтрального характера - 1-винил-3,4,6,7-тетраметокси-фенантрен (V), t_m. 125-128°C. Соединения IV и V, в отличие от дес-основания А (III), являются лабильными соединениями, легко окисляющимися на воздухе.

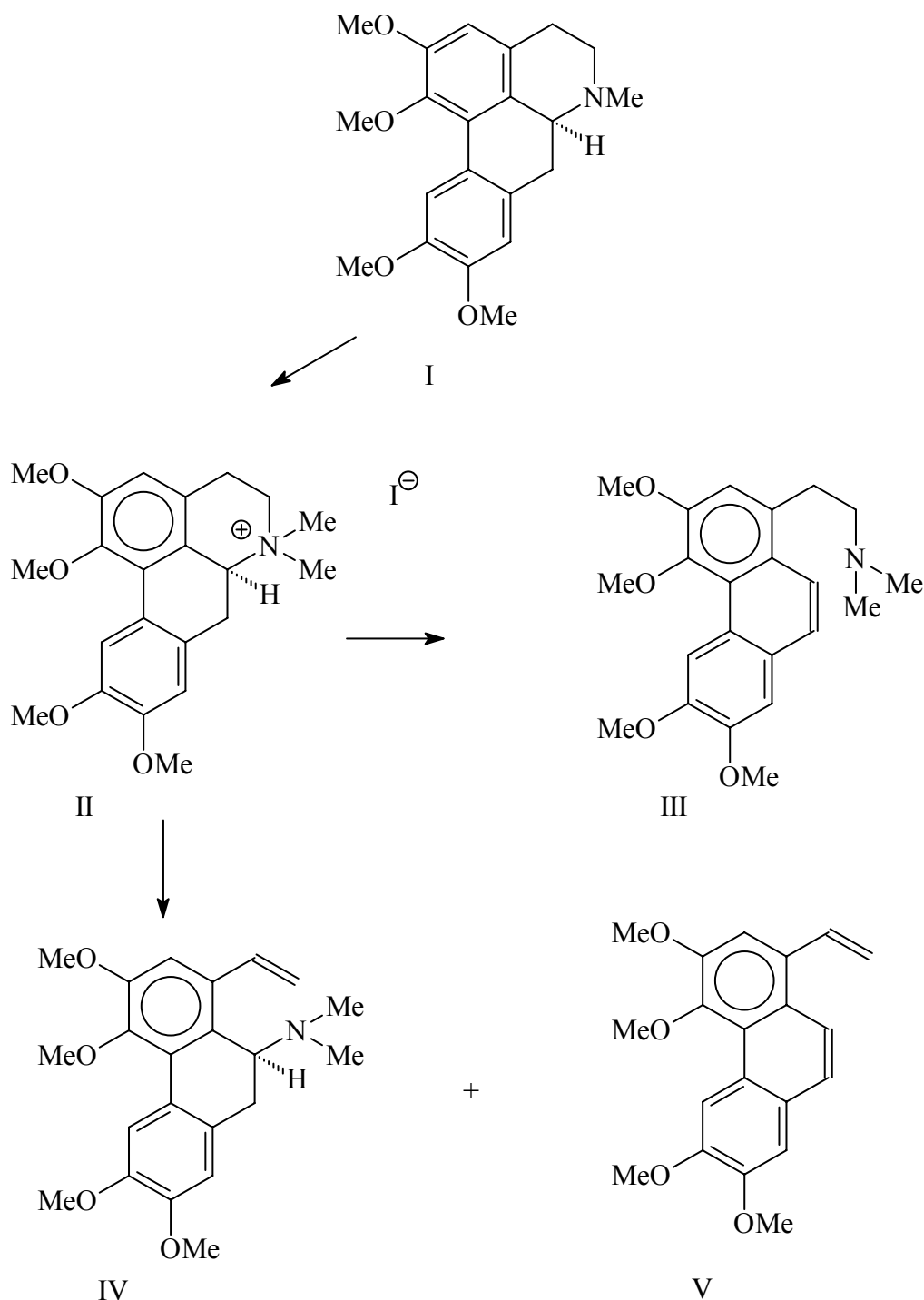
Соединение IV и V являются лабильными соединениями, легко окисляющимися на воздухе. В результате окисления IV и V в присутствии перманганата калия в уксусной кислоте получены соединения VI и VII, которые являются дес-основаниями A и B соответственно. Соединения VI и VII являются лабильными соединениями, легко окисляющимися на воздухе.

Таким образом, установлено, что при расщеплении иодметилата глауцина (II) по Гофману в зависимости от условий реакции (растворителя, температуры, времени реакции) можно получить различные продукты деградации, включая дес-основания A и B, а также нейтральные соединения V и VII.

Преимущественное образование соединения III в процессе деградации объясняется стабилизацией последнего в сопряженной фенантроновой системе. В монографии Дж. Марча образование разных продуктов деградации в условиях деградации Гофмана объясняется

протеканием процесса по разным механизмам: соответственно *син*- и *анти*-элиминирования [6]. По нашим представлениям, изменение направления реакции элиминирования в разных растворителях может быть связано с изменением сольватной оболочки катиона метилглауциния. Например, (ионная) пара объемного аниона триметилкарбинола образует структуру, затрудняющую осуществление элиминирования в пятичленном переходном состоянии, подобно реакции в случае стерически затрудненных субстратов.

Из рассмотрения молекулярных моделей йодметилата глауцина (II) видно, что нет значительных различий в доступности центров C^{6a} -H_a и C^5 -H_a к атаке нуклеофильным агентом. Таким образом, наблюдающиеся различия в направленности деградации по Гофману можно объяснить следующим образом. В водной среде четвертичное аммониевое производное находится в ионизированной мономерной форме, сольватированное молекулами воды. В трет-бутиловом спирте молекулы четвертичного аммониевого производного находятся преимущественно в ассоциированной (димерной) форме, в которой атом C^{6a} -H_a заслонен фрагментом C^1 -OMe другой молекулы, а атом C^5 -H_a доступен для такой атаки. С другой стороны, четвертичный атом азота сольватирован анионом трет-бутоксидом, затрудняющий подход нуклеофила. Согласно механизму процесса, рассматриваемому в монографии Марча [6], в реакции участвует циклическое пятичленное переходное состояние, в котором участвует протон N-метильной группы. Образование метина вместе с изометином и бисметином наблюдалось ранее в реакции йодметилата глауцина и других четвертичных апорфиновых алкалоидов с диазометаном [7].



Аналогично, при этом тенденция к *син*-отщеплению (в пятичленном переходном состоянии) повышается с увеличением объема уходящей группы и объема атакующего основания. Таким образом, пространственно затрудненные агенты и заместители влияют на конформацию соединения, создавая ситуацию, благоприятную к *син*-элиминированию.

Вспомогательная информация (данная в виде примечания) указывает на то, что при этом тенденция к *син*-отщеплению (в пятичленном переходном состоянии) повышается с увеличением объема уходящей группы и объема атакующего основания. Таким образом, пространственно затрудненные агенты и заместители влияют на конформацию соединения, создавая ситуацию, благоприятную к *син*-элиминированию.

Дес-основания первого типа (В-секо-апорфиновые алкалоиды), а также их окисленные производные недавно были найдены в растительных источниках. N-этил-секо-глауцин (III) был изолирован из *Platycarpus spicata* семейства *Fumariaceae* [9]. Однако первоначально он был получен полусинтетически из глауцина. Другой секоапорфиновый алкалоид фиссизин и его N-оксид I были выделены из *Fissistigma glaucescens* [10].

1. Ключев М.А., Бабаян Э.А. (Ред.). (1979). Лекарственные препараты, разрешенные к применению в СССР. Медицина, Москва.– С. 62.
2. Kametani T., Honda T. (1985). Aporphine Alkaloids. In: The Alkaloids, Chemistry and Pharmacology. Vol. XXIV. Brossi A. (Ed.). Acad. Press. Orlando etc. Chapt. 4. – P. 153-251.
3. Shamma M. (1972). Aporphines. In: The Isoquinoline Alkaloids, Chemistry and Pharmacology. Acad. Press, Verlag Chemie.– P. 194-228.
4. Бентли К.В. (1967). Разрыв связей углерод-азот и углерод-кислород. В кн. “Установление структуры органических соединений физическими и химическими методами”, Bentley K.W. (Ed.). Химия, Москва. Гл. 14. С. 341-383.
5. Shamma M. (1972). The Isoquinoline Alkaloids, Chemistry and Pharmacology. Acad. Press, Verlag Chemie. P. 194-228.
6. Дж. Марч. (1988). Органическая химия, Т. 4. Москва, Мир.– гл. 17. – С. 5.
7. Lu Sheng-Teh, Tsai Ian-Lih. (1988). Hofmann Elimination with Diazomethane on Quaternary Benzyliisoquinoline Related Alkaloids. Heterocycles.– Vol. 27(3). – P. 751-768.
8. Беккер Г. (1977). Введение в электронную теорию органических реакций. 3 изд., Мир, Москва. – С. 260 и след.
9. Blanco O., Castedo L., Cid M., Seijas J.A., Villaverde C. (1990). Heterocycles. Vol. 31(6). – P. 1077-1080. РЖХим., 3Е122(1991).
10. Wu Y.-Ch., Kao Sh.-Ch., Huang J.-F., Duh Ch.-Y., Lu Sh.-T. (1990). Phytochemistry. Vol. 29(7). – P. 2387-2388.

REZTSOVA N.A., SKLYAR Yu.E., TOLKACHEV O.N., KOLKHIR V.K.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

REGIOSELECTIVITY OF THE HOFFMANN DEGRADATION OF GLAUCINE METHIODIDE AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF N-METHYL-*DES*-GLAUCINE

There has been shown that glaucine methiodide (II) on the Hoffmann degradation yields a mixture of isomeric methines, the ratio of which depending on solvents used in the reaction: in aqueous and lower alcoholic solutions the main products was methine (III), while in *tert*-BuOH solution the principal product was glaucine *iso*-methine (IV) in a mixture with a neutral product (glaucine bis-methine) (V). Regioselectivity of the reaction was discussed. Glaucine methine (III) was shown to possess antitussive activity without hypotensive by-effects.

КИРЬЯНОВА И.А., СКЛЯР Ю.Е., ТОЛКАЧЕВ О.Н.

ВИЛАР, Москва, Россия

ХРОМОГЕННЫЕ РЕАКЦИИ ГЛАУЦИНА: РЕАКЦИЯ С БРОМАНИЛОМ

Галогенозамещенные бензохиноны-1,4 (хлоранил, броманил, 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинон) широко используются в органической химии для дегидрирования при установлении структуры природных соединений, в том числе, алкалоидов, для их модификации методами полусинтеза и для получения новых биологически активных продуктов, аналогов природных соединений [1-2]. \hat{A} $\epsilon\alpha\alpha\hat{i}\delta\alpha\delta\hat{i}\delta\epsilon\epsilon$ $\alpha\epsilon\epsilon\alpha\epsilon\hat{i}\epsilon\alpha\hat{i}\hat{a}$ $\hat{i}\delta\hat{i}\hat{a}\hat{i}\hat{a}\hat{y}\hat{o}\hat{n}\hat{y}$ $\hat{n}\hat{e}\hat{n}\hat{o}\hat{a}\hat{i}\hat{a}\hat{o}\hat{e}\hat{+}\hat{a}\hat{n}\hat{e}\hat{e}\hat{a}$ $\delta\epsilon\hat{i}\hat{e}\hat{+}\hat{a}\hat{n}\hat{e}\hat{e}\hat{a}$ $\epsilon\hat{n}\hat{n}\hat{e}\hat{a}\hat{i}\hat{a}\hat{i}\hat{a}\hat{i}\hat{e}\hat{y}$ \hat{a} $\delta\hat{y}\hat{a}\hat{o}$ $\hat{a}\hat{n}\hat{\delta}\hat{o}\hat{e}\hat{i}\hat{a}\hat{u}\hat{o}$ $\alpha\epsilon\epsilon\alpha\epsilon\hat{i}\epsilon\alpha\hat{i}\hat{a}$, \hat{a} $\hat{+}\hat{a}\hat{n}\hat{o}\hat{i}\hat{n}\hat{o}\hat{e}$, $\hat{i}\hat{i}$ $\delta\epsilon\hat{i}\hat{e}\hat{+}\hat{a}\hat{n}\hat{e}\hat{i}\hat{e}$ $\hat{i}\hat{i}\hat{a}\hat{e}\hat{o}\hat{e}\hat{e}\hat{a}\hat{o}\hat{e}\hat{e}$ $\hat{n}\hat{o}\hat{\delta}\hat{o}\hat{e}\hat{o}\hat{o}\hat{\delta}\hat{u}$ $\hat{a}\hat{e}\hat{a}\hat{o}\hat{o}\hat{e}\hat{i}\hat{a}$ (I), $\hat{i}\hat{\delta}\hat{i}\hat{o}\hat{e}\hat{i}\hat{e}\hat{a}\hat{o}\hat{e}\hat{a}\hat{i}\hat{a}\hat{i}$ $\hat{n}\hat{o}\hat{a}\hat{a}\hat{n}\hat{o}\hat{a}\hat{a}$, $\hat{i}\hat{i}\hat{e}\hat{o}\hat{+}\hat{a}\hat{a}\hat{i}\hat{i}\hat{a}\hat{i}$ $\epsilon\hat{c}$ $\hat{i}\hat{a}\hat{+}\hat{e}\hat{a}$ $\hat{x}\hat{a}\hat{e}\hat{o}\hat{i}\hat{a}\hat{i}$, \hat{n} $\hat{o}\hat{a}\hat{e}\hat{u}\hat{p}$ $\hat{o}\hat{a}\hat{e}\hat{o}\hat{a}\hat{e}\hat{i}\hat{e}\hat{y}$ $\hat{c}\hat{i}\hat{a}\hat{i}\hat{e}\hat{e}$ $\hat{i}\hat{a}$ $\epsilon\hat{o}$ $\delta\epsilon\hat{i}\hat{e}\hat{+}\hat{a}\hat{n}\hat{e}\hat{e}\hat{o}$ $\hat{n}\hat{a}\hat{i}\hat{e}\hat{n}\hat{o}\hat{a}\hat{a}\hat{o}$, $\hat{a}\hat{e}\hat{y}$ $\hat{o}\hat{o}\hat{i}\hat{+}\hat{i}\hat{a}\hat{i}\hat{e}\hat{y}$ $\hat{I}\hat{O}\hat{A}$ $\hat{i}\hat{a}$ $\hat{i}\hat{\delta}\hat{i}\hat{a}\hat{\delta}\hat{a}\hat{o}$, $\hat{o}\hat{n}\hat{o}\hat{a}\hat{i}\hat{i}\hat{a}\hat{e}\hat{a}\hat{i}\hat{e}\hat{y}$ $\hat{n}\hat{o}\hat{\delta}\hat{o}\hat{e}\hat{o}\hat{o}\hat{\delta}\hat{i}\hat{+}\hat{o}\hat{o}\hat{i}\hat{e}\hat{o}\hat{e}\hat{i}\hat{a}\hat{e}\hat{u}\hat{i}\hat{o}$ $\epsilon\hat{i}\hat{\delta}\hat{o}\hat{a}\hat{e}\hat{y}\hat{o}\hat{e}\hat{e}$, $\hat{a}\hat{e}\hat{y}$ $\hat{o}\hat{i}\hat{\delta}\hat{i}\hat{u}\hat{a}\hat{i}\hat{e}\hat{y}$ $\hat{o}\hat{a}\hat{o}\hat{i}\hat{i}\hat{e}\hat{i}\hat{a}\hat{e}\hat{e}$ $\hat{i}\hat{\delta}\hat{i}\hat{e}\hat{c}\hat{a}\hat{i}\hat{a}\hat{n}\hat{o}\hat{a}\hat{a}$ $\hat{i}\hat{\delta}\hat{i}\hat{a}\hat{\delta}\hat{a}\hat{o}\hat{a}$. \hat{A} $\hat{n}\hat{a}\hat{\delta}\hat{e}\hat{e}$ $\hat{\delta}\hat{a}\hat{a}\hat{i}\hat{o}$ $\hat{i}\hat{i}$ $\hat{\delta}\hat{a}\hat{c}\hat{\delta}\hat{a}\hat{a}\hat{i}\hat{o}\hat{e}\hat{a}$ $\hat{n}\hat{i}\hat{a}\hat{o}\hat{e}\hat{o}\hat{e}\hat{+}\hat{a}\hat{n}\hat{e}\hat{e}\hat{o}$ $\hat{o}\hat{\delta}\hat{i}\hat{i}\hat{a}\hat{a}\hat{i}\hat{u}\hat{o}$ $\hat{\delta}\hat{a}\hat{a}\hat{e}\hat{o}\hat{e}\hat{e}$ $\hat{i}\hat{a}$ $\hat{a}\hat{e}\hat{a}\hat{o}\hat{o}\hat{e}\hat{i}$ $\epsilon\hat{n}\hat{i}\hat{i}\hat{e}\hat{u}\hat{c}\hat{i}\hat{a}\hat{a}\hat{i}\hat{u}$ $\hat{i}\hat{e}\hat{n}\hat{e}\hat{e}\hat{o}\hat{a}\hat{e}\hat{u}\hat{i}\hat{u}\hat{a}$ $\hat{i}\hat{a}\hat{o}\hat{i}\hat{a}\hat{u}$, $\hat{i}\hat{a}\hat{i}\hat{\delta}\hat{e}\hat{i}\hat{a}\hat{\delta}$, $\hat{i}\hat{i}\hat{e}\hat{e}\hat{a}\hat{a}\hat{i}\hat{a}\hat{i}\hat{i}\hat{a}\hat{a}\hat{i}\hat{c}\hat{i}\hat{o}\hat{e}\hat{i}\hat{i}\hat{u}$.

$\hat{I}\hat{\delta}\hat{e}$ $\epsilon\hat{c}\hat{o}\hat{+}\hat{a}\hat{i}\hat{e}\hat{e}$ $\hat{\delta}\hat{a}\hat{a}\hat{e}\hat{o}\hat{e}\hat{e}$ $\hat{a}\hat{e}\hat{a}\hat{o}\hat{o}\hat{e}\hat{i}\hat{a}$ \hat{n} $\hat{a}\hat{o}\hat{i}\hat{i}\hat{a}\hat{i}\hat{e}\hat{e}\hat{i}\hat{i}$ ($\hat{o}\hat{a}\hat{o}\hat{\delta}\hat{a}\hat{a}\hat{\delta}\hat{i}\hat{i}\hat{a}\hat{a}\hat{i}\hat{c}\hat{i}\hat{o}\hat{e}\hat{i}\hat{i}\hat{i}$) $\hat{a}\hat{u}\hat{e}\hat{i}$ $\hat{i}\hat{a}\hat{e}\hat{a}\hat{a}\hat{i}\hat{i}$, $\hat{+}\hat{o}\hat{i}$ $\hat{i}\hat{i}\hat{a}$ $\hat{i}\hat{\delta}\hat{i}\hat{o}\hat{a}\hat{e}\hat{a}\hat{a}\hat{o}$ $\hat{i}\hat{\delta}\hat{e}$ $\epsilon\hat{i}\hat{i}\hat{i}\hat{a}\hat{o}\hat{i}\hat{i}\hat{e}$ $\hat{o}\hat{a}\hat{i}\hat{i}\hat{a}\hat{\delta}\hat{a}\hat{o}\hat{o}\hat{\delta}\hat{a}$ (12 часов \hat{a} CH_2Cl_2), $\hat{i}\hat{\delta}\hat{e}\hat{+}\hat{a}\hat{i}$ $\hat{i}\hat{\delta}\hat{i}\hat{a}\hat{o}\hat{e}\hat{o}$ $\hat{\delta}\hat{a}\hat{a}\hat{e}\hat{o}\hat{e}\hat{e}$ $\hat{a}\hat{u}\hat{a}\hat{a}\hat{e}\hat{y}\hat{p}\hat{o}$ $\epsilon\hat{c}$ $\hat{i}\hat{a}\hat{o}\hat{i}\hat{+}\hat{i}\hat{u}\hat{o}$ $\hat{\delta}\hat{a}\hat{n}\hat{o}\hat{a}\hat{i}\hat{\delta}\hat{i}\hat{a}$ $\hat{i}\hat{i}\hat{n}\hat{e}\hat{a}$ $\hat{i}\hat{o}\hat{a}\hat{a}\hat{e}\hat{a}\hat{i}\hat{e}\hat{y}$ $\hat{i}\hat{a}\hat{i}\hat{\delta}\hat{i}\hat{\delta}\hat{a}\hat{a}\hat{a}\hat{e}\hat{\delta}\hat{i}\hat{a}\hat{a}\hat{o}\hat{a}\hat{i}$ $\hat{a}\hat{o}\hat{i}\hat{i}\hat{a}\hat{i}\hat{e}\hat{e}\hat{a}$ $\hat{i}\hat{i}\hat{n}\hat{e}\hat{a}$ $\hat{o}\hat{i}\hat{a}\hat{\delta}\hat{e}\hat{a}\hat{a}\hat{i}\hat{e}\hat{y}$ $\hat{\delta}\hat{a}\hat{n}\hat{o}\hat{a}\hat{i}\hat{\delta}\hat{e}\hat{o}\hat{a}\hat{e}\hat{y}$. $\hat{I}\hat{\delta}\hat{i}\hat{a}\hat{o}\hat{e}\hat{o}$ $\hat{\delta}\hat{a}\hat{a}\hat{e}\hat{o}\hat{e}\hat{e}$ $\hat{\delta}\hat{a}\hat{n}\hat{o}\hat{a}\hat{i}\hat{\delta}\hat{y}\hat{p}\hat{o}$ \hat{a} $\hat{n}\hat{i}\hat{e}\hat{\delta}\hat{o}\hat{a}$, $\epsilon\hat{c}$ $\epsilon\hat{i}\hat{o}\hat{i}\hat{\delta}\hat{i}\hat{a}\hat{i}$ $\hat{a}\hat{u}\hat{i}\hat{a}\hat{a}\hat{a}\hat{a}\hat{o}$ $\hat{i}\hat{n}\hat{a}\hat{a}\hat{i}\hat{e}$ $\hat{n}\hat{e}\hat{i}\hat{a}\hat{a}\hat{i}$ $\hat{o}\hat{a}\hat{a}\hat{o}\hat{a}$, $\hat{i}\hat{e}\hat{i}\hat{o}\hat{i}$ $\hat{\delta}\hat{a}\hat{n}\hat{o}\hat{a}\hat{i}\hat{\delta}\hat{e}\hat{i}\hat{u}\hat{e}$ \hat{a} $\hat{i}\hat{a}\hat{u}\hat{+}\hat{i}\hat{u}\hat{o}$ $\hat{i}\hat{\delta}\hat{a}\hat{i}\hat{e}\hat{+}\hat{a}\hat{n}\hat{e}\hat{e}\hat{o}$ $\hat{\delta}\hat{a}\hat{n}\hat{o}\hat{a}\hat{i}\hat{\delta}\hat{e}\hat{o}\hat{a}\hat{e}\hat{y}\hat{o}$ \hat{e} \hat{a} $\hat{a}\hat{i}\hat{a}\hat{a}$. $\hat{A}\hat{a}\hat{u}\hat{a}\hat{n}\hat{o}\hat{a}\hat{i}$ $\epsilon\hat{i}\hat{a}\hat{a}\hat{o}$ $\hat{n}\hat{i}\hat{n}\hat{o}\hat{a}\hat{a}$ $\hat{N}_{26}\hat{I}_{19}\hat{I}_{6}\hat{Br}_2\hat{N}$, \hat{o} . $\hat{i}\hat{e}$. 284-286° \hat{N} .

Масс-спектр (m/z): M^+ 601, 337 (601-264).

О¹⁸O-IR (λ_{max}): 278, 293, 600 μ .

¹H NMR (δ , τ): 3,48 (d, 1H, $J=2,0$, NH_2N^+); 3,69 (кв., 1H, $J=2,0$, CH_2N^+); 4,91 (м., 1H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$); 3,98, 4,06, 4,11 (с., 3 x 3H, OCH_3); 4,24 (с., 3H, NCH_3); 4,89 (т., 1H, $J=2,0$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$); 7,10 (с., 1H, H^3); 9,22 (с., 1H, H^8); 9,44 (с., 1H, H^{11}).

IR (ν_{max}): 1600, 1630, 1650 и 1670 ($\text{N}=\text{I}$, $\text{N}=\text{N}$).

Сильный парамагнитный сдвиг сигнала протонов N-метильной группы и соответствующих метиленовых протонов, а также ароматического протона H^{11} в ЯМР спектре, наличие колебаний в области от 2000 до 3500 cm^{-1} в ИК-спектре, а также отсутствие аниона брома свидетельствует о наличии цвиттер-ионной структуры соединения V. Образование последнего можно представить в четыре стадии: (а) дегидрирование кольца "С" броманилом с образованием дегидроглауцина (II); (б) образование четвертичного аммониевого производного (III) с броманилом; (в) O-деметилование группы O^1CH_3 с образованием соединения IV и (г) циклоконденсация соединения IV и V.

Из молекулярной модели, рассчитанной методом молекулярной динамики по программе MM2, видно, что метоксильная группа, соответствующая группе C^8OCH_3 в глауцине, выведена из плоскости сопряжения с ароматическим кольцом, а гетероцикл В имеет конформацию полукресла, в котором метиленовая группа CH_2N^+ отклонена от плоскости в сторону, противоположной метиламмониевой группе (смотри рис. 1).

А при реакции глауцина с пространственно затрудненным 4,6-дитрет-бутил-о-бензохиноном в толуоле (95-100°C, 6 часов) происходило лишь дегидрирование алкалоида до дегидроглауцина и не было обнаружено продуктов конденсации.

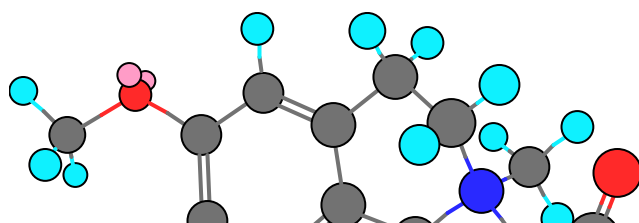
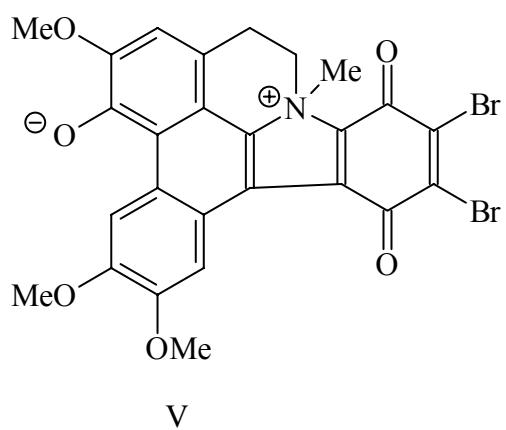
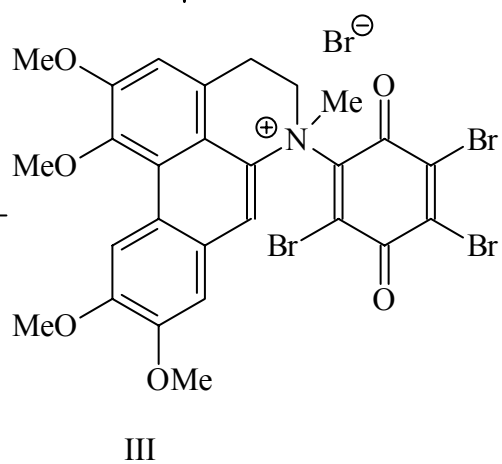
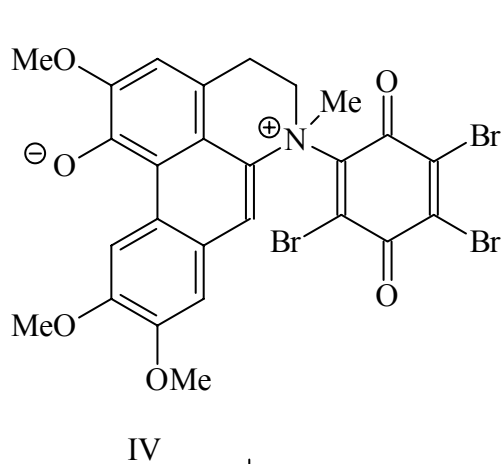
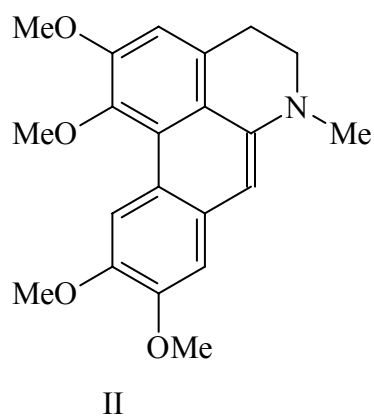
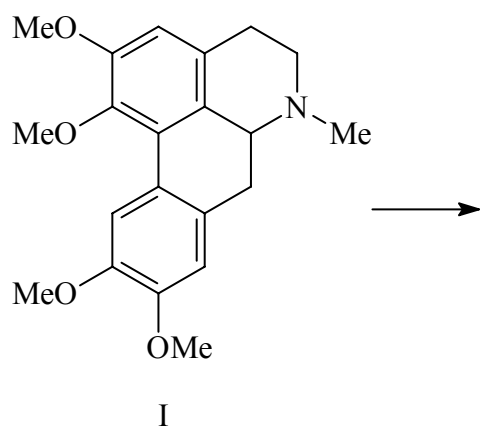


Рис. 1. Молекулярная модель продукта взаимодействия броманила с глауцином формулы V (модель “sticks and balls”).

ЛИТЕРАТУРА

1. Валента З. (1967). Дегидрирование. В книге: Установление структуры органических соединений физическими и химическими методами, Bentley K.W. (Ed.), Книга II. Химия, Москва. - С. 154-220.
2. Barton D., Ollis W.D. (Chairman and Deputy chairman of Ed. Board). (1981-1988). Общая органическая химия, Т. 1-12. Химия, Москва.

Kir'yanova I.A., Sklyar Yu.E., Tolkachev O.N.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

CHROMOGENIC REACTIONS OF GLAUCINE: REACTION WITH BROMANIL

There was shown that alkaloid glaucine (I) on reaction with tetrabromo-benzoquinone (bromanil) produced blue colored hexacyclic compound possessing zwitter-ionic structure (V). Its structure elucidation is discussed in the work.

КИРЬЯНОВА И.А., СКЛЯР Ю.Е., ТОЛКАЧЕВ О.Н.

ВИЛАР, Москва, Россия

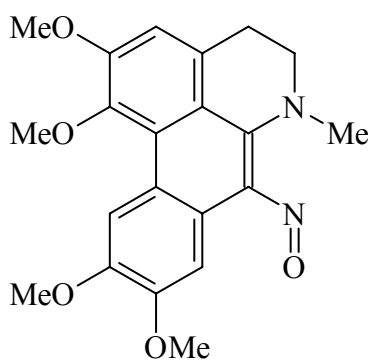
О СТРУКТУРЕ ПИГМЕНТОВ: ПРОДУКТОВ НИТРОЗИРОВАНИЯ ГЛАУЦИНА И N-АЦЕТИЛ-ДЕС-ГЛАУЦИНА

Существует ряд методов определения подлинности глауцина (I) и количественного его определения. К последним относятся методы ВЭЖХ, ГЖХ, спектрофотометрии и т. д. [1-

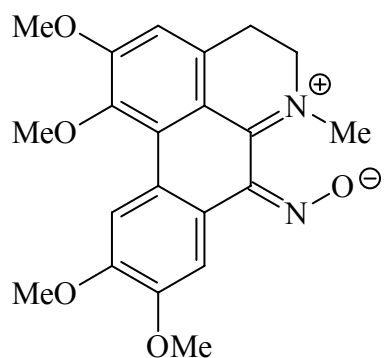
2]. Предложенный болгарскими авторами метод его колориметрического определения в сырье основан на извлечении из растительного материала суммы алкалоидов, хроматографическом выделении из нее зоны глауцина, проведении цветной реакции с HNO_2 . Метод дает ошибку в определении около 3% [3]. Однако авторами не обсуждается механизм хромогенной реакции и природа образующегося пигмента. В настоящей работе проведено изучение структуры красного пигмента, полученного в результате этой реакции.

Όπείαεϋ ιδίαααίεϋ γοίε δααεοεε ίαίε αίεε ίαεοεοεδίααίϋ. Άίεί εςό÷αίί αεϋίεα ηδααϋ, οαίταδαοόδϋ ε αδοαεο ίαδαίαοόδία на ход протекания процессов. Ά ÷αηόίηηδε, αεϋ οίαί, ÷οίάϋ εςαααεαοϋ εςαίυοεα αςίοεηοίε εεηείοϋ, α δααεοεε εηηεϋςίααεε αεεαείεα α αεαα αεαδίοείδεαα ε ιεοδεο ίαοδεϋ. Δααεοεη ιδίαίεεε α αίαα εεε αοαοίεοδεεα ιδε είηιαοίίε οαίταδαοόδα εεε ιδε ίααδααίεε. Ιδε είηιαοίίε οαίταδαοόδα δααεοεϋ ιδίαεαεα ί÷αίϋ ίααεαίη α οα÷αίεα ίαηείεϋεεο αίαε, ιδε÷αί ηηίαίϋι εηηίαίοίη δααεοείηίε ίαηηϋ γαεϋεηϋ εηοίαίϋε αεαοόεί α ηίαηε η ίααίεϋοεί είεε÷αηοαίη εδαηίαί ίεαίαίοα. Ιαεεο÷οείε οηείαεϋίε ααί ηεο÷αίεϋ γαεϋεηϋ ιδίαααίεα ιδίοαηηα α αοαοίεοδεεα ιδε εεταίεε (2 ÷αηα), ίοααεαίεα ςαεδεηδαεεεςίαααοαίηϋ ιδε είηιαοίίε οαίταδαοόδα ιεοδεοα αεαοόεία αεεοίαί οααοα, α ες ίαοί÷ηηα δαηοαίδα ηεο÷αί εδαηίϋε ίεαίαίο. Ια οδίαοίαδαίηα (ΌÑÕ ία ηεεεεαααεα “Silu-fol”) образца пигмента наблюдались два пятна веществ красного цвета. Ιί ααίϋϋ ¹Ι ΒΙD ηίαεοδα (δ, i.ä., CDCl_3) α ηηίαίη ιδίαοεοα δααεοεε ιδεηοοηοαόρο ηεαίαεϋ ιδίοίηα ίαοίεηεεϋϋο αδοη 4,03, 4,02, 4,01 и 3,81 (η., 4 ο 3ί), N-ιαοεεϋίε αδοηϋ 3,10 (η., 3ί), αδηαοε÷αηεεο ιδίοίηα 9,05, 7,70, 7,00 (3 ο 1ί), ίαοεεαίηϋο ιδίοίηα είεϋοα Α 3,58 (ο., 2ί) ε 3,18 (ο., 2ί). Ιδε γοίη α ηίαεοδα ηίααείαίεϋ ίοηοοηοαόρο ηεαίαεϋ ιδίοίηα είεϋοα Ñ. Οαεεί ίαδαςη, ηίααείαίεα γαεϋαοηϋ ιεοδίςι-ιδιεςαίηϋι αααεαδίαεαοόεία, είοίδαϋ ςαίειααο ηείεαίεα 7, εεαί ειααο ίεηείείη-ηοδοεοόδο (ηεί- ε αίοε-). Ιδίοαεαίεα δααεοεε ίαεί ιδααηοααεοϋ α ααα ηοααεε: ία ίαδαίη γοαία ίαδαςοαοηϋ αααεαδίαεαοόεί, είοίδϋε ααεαα ηαααδαααοηϋ Ñ-ιεοδίςεδίααίεη (ηηοδε ηοαίο 1).

Ιείειαεϋίαϋ ηδαίοεαεϋίαϋ γίαδαεϋ εςηαδίϋο ιδίαοεοία δααεοεε Ñ-ιεοδίςεδίααίεϋ αεαοόεία δαηη÷εοαία ίαοίηη ηεαεοεϋδίε ίαδαίεεε η ιδίαδαίη Ι2. Ιδε γοίη αίεί ηεαςαί, ÷οί οαεοοαδ-είηαϋ ηοδοεοόδα ηίααείαίεϋ (IIa) (син-оксима, $\Sigma E = -50,6969$ ккал/моль) является энергетически более предпочтительной по сравнению с 7-нитрозо-производным структуры (II) ($\Sigma E = 39,4154$ ккал/моль) εεε αίοε-ίεηείη (οαεοοαδ-είηαϋ ηοδοεοόδα, $\Sigma E = 39,2318$ ккал/моль). На рисунке 1 представлена пространственная компьютерная модель соединения IIa, из которой видна скрученная конфигурация соединения.



II



IIa

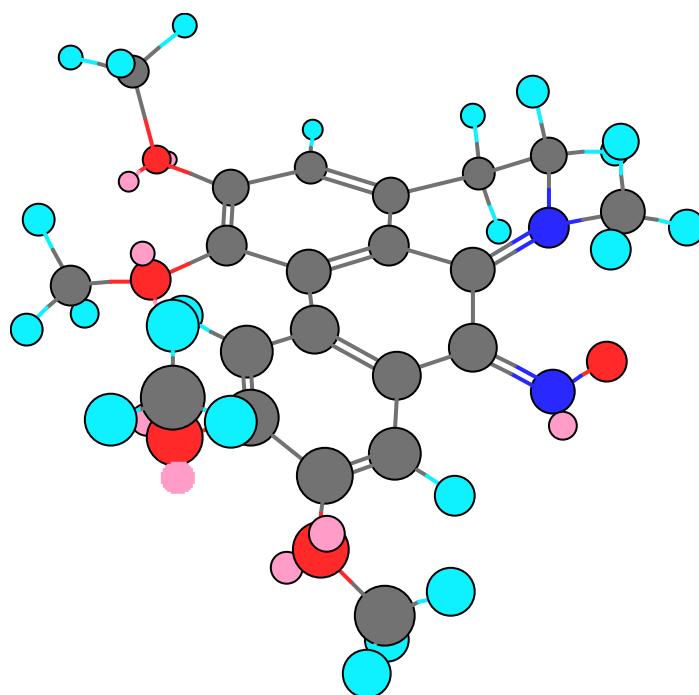
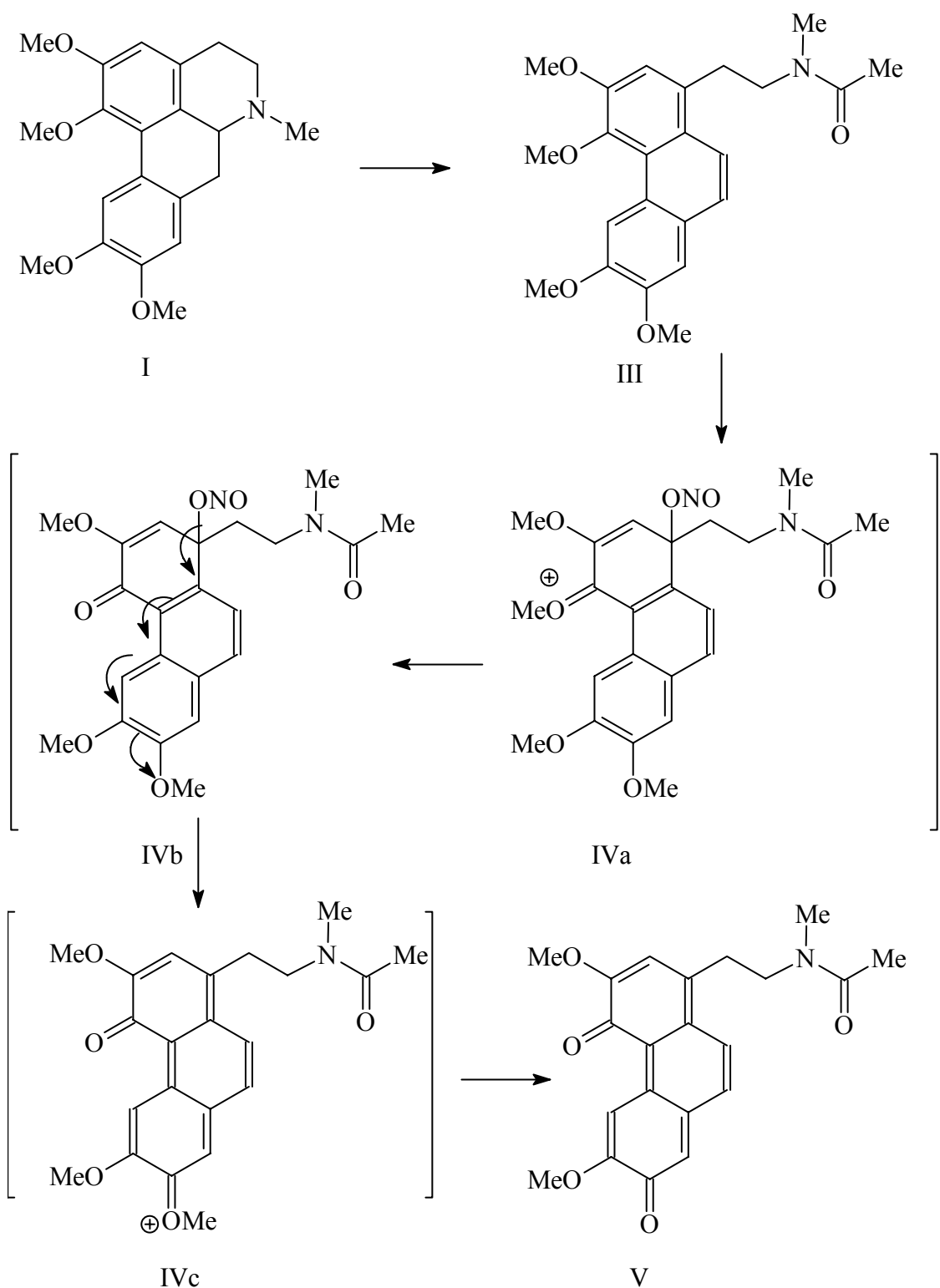


Рис. 1. Молекулярная модель 8-нитрозо-глауцин (цвиттер-ионная структура).

Íáéááíú á ðáñóáíèýð Á-ñáéíàèèàéíèàú, íèèñéáííúá áíàéíàè èçííàðèíá àíñðòèíáúð àèèàéíèàíá, íàíðèíáð, àðèñòíèíðèèáááý èèñéíòà I, II, III и IIIa è èð íàðèèíáúá ýòèðú (из *Aristolochia clematidis* L.), àðèñòíèàèòàì, òàèèñéáíéí, таликтуберин è äðóãèá, íðááñòááèýñóèá èíòáðáñ ñ áéíèíàè÷áñéíé òí÷èè çðáíèý [4-6]. Получение новых соединений этого ряда дает возможность использования их для установление структурно-функциональных корреляций.



Однако из-за лабильности соединений ряда метинов в кислотных средах и определенной трудности при работе с ними нами был использован N-ацетил-*дес*-глауцин (N-ацетил-В-секо-глауцин) (III), легко получаемый при ацетилировании глауцина Ac_2O . Нитрозирование последнего (HNO_2 , AcOH , $0-5^\circ\text{C}$) приводит к образованию синего пигмента состава $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{NO}_5$, т. пл. $170-172^\circ\text{C}$, M^+ 367.

ИК-спектр (вазелиновое масло), cm^{-1} : 1600, 1620, 1675.

ПМР-спектр (δ , м. д.): 2,14 (с, 3H, NCOCH₃); 3,04 (ò, 2H, J=3,6 Åö, NCH₂); 3,09 (с, 3H, NCH₃); 3,66 (ì, 2H, CH₂Ar); 4,03 4,08 (с, 3H, 2 x OCH₃); 6,34 (с, 1H, H⁸); 7,06 (с, 1H, H²); 8,02 7,82 (ä, 1H, J=8,0 Åö, H^{9,10}); 8,98 (с, 1H, H⁵).

Таким образом, в соединении присутствуют две группы OMe, NMe, NAc, два карбонила в фенантреновом ядре, что должно соответствовать структуре – 1-[2-(N-äöäòèè)làòèèàìèíúòèè-ôâíáíòðâíðèííà-4,7] (V). Образованию указанной структуры должна предшествовать *инсо*-атака HONO на атом C¹ (IVa) с образованием промежуточных *спиро*-соединений IVa,b и последующим последовательным гидролитическим отщеплением двух метильных групп (стадии образования полупродуктов IVb, IVc) согласно схеме 2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Компанцева Е.В., Толкачев О.Н., Ботезат-Белый Ю.К., Кудрин С.А., Клочков С.В., Маркова О.М.Ю., Тумбов В.Г., Ладанова А.А., Мочалова Н.Л. (1989). Количественное определение глауцина методом ГЖХ. // Химико-фармацевтический журнал.– Т. 23(9). – С.1116-1120.
2. Фарматека, приложение. – 6/96. – С. 40-41.
3. Stefanov Zh. (1968). Farmatsiya (Sofia). – Vol. 18(4).- P. 37-41; Chem. Abstr., 70, 40657w (1969).
4. Boit H.-G. (1961). Ergebnisse der Alkaloid-Chemie bis 1960, Akademie-Verlag, Berlin, S. 261-284.
5. Liebisch L.W. (1969). Cyclisierungsmechanismen bei der Alkaloidbiosymnthese. In: Biosynthese der Alkaloide. Mothes K. Und Schütte (Eds.), VEB Deutsch. Verlag der Wissensch. – Berlin, S. 101-122.
6. Федоров Ал.А. (Отв. ред.). Растительные ресурсы СССР. Цвктковые растения, их химический состав, использование. Семейства Magnoliaceae – Limoniaceae, Ё., “Наука“ Ленингр. отд. – С. 17-18.

Kir'yanova I.A., Sklyar Yu. E., Tolkachev O.N.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

ABOUT THE STRUCTURES OF PIGMENTS - NITROSATION PRODUCTS OF GLAUCINE AND N-ACETYL-*DES*-GLAUCINE TRANSFORMATION

The red pigment isolated from the reaction mixture of glaucine hydrochloride and sodium nitrite was shown to be C⁷-nitroso product (II). Its zwitter-ion structure (IIa) was discussed. N-

Acetyl-*des*-glaucine (III), the other way round, on nitrosation yields blue 1-[2-(N-acetyl)methylaminoethyl-phenanthrene quinone-4,7] (V). The reaction mechanism is discussed.

ШЕЙЧЕНКО О.П., ШЕЙЧЕНКО В.И., ТОЛКАЧЕВ О.Н., ГРОДНИЦКАЯ Е.И., ИСАЕВ

О.Н.*, ЦАРЬКОВА Т.Ф.*

ВИЛАР, Москва, Россия,

*Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства,

Москва, Россия

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ ТАННИНОВ И КВЕБРАХИТА В ЛИСТЬЯХ ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВИДНОЙ

Облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides* L.) семейства лоховых *Elaegnaceae* – $\eta\pi\acute{o}\epsilon\upsilon\delta\acute{\iota}\alpha\ \epsilon\acute{\alpha}\epsilon\alpha\delta\eta\acute{o}\alpha\acute{\alpha}\acute{\iota}\acute{\iota}\alpha\ \delta\alpha\eta\acute{o}\alpha\acute{\iota}\epsilon\alpha\ \delta\epsilon\acute{\iota}\delta\acute{\upsilon}\ \acute{\Delta}\eta\eta\eta\epsilon\acute{\epsilon}\eta\acute{\epsilon}\acute{\iota}\epsilon\ \acute{O}\alpha\acute{\alpha}\delta\alpha\acute{o}\epsilon\epsilon\epsilon\ ,\ \epsilon\varsigma\alpha\delta\alpha\acute{\alpha}\epsilon\upsilon\ \epsilon\eta\eta\acute{\epsilon}\upsilon\varsigma\acute{o}\rho\eta\alpha\acute{\alpha}\eta\upsilon\ \hat{\alpha}\ \delta\delta\alpha\acute{\alpha}\epsilon\delta\epsilon\acute{\iota}\acute{\iota}\acute{\epsilon}\ \acute{\iota}\alpha\acute{\alpha}\epsilon\delta\epsilon\acute{\iota}\alpha\ \epsilon\ \acute{\alpha}\epsilon\alpha\delta\acute{o}\acute{\epsilon}\acute{\iota}\alpha\epsilon\epsilon\ (\eta\acute{\iota}\epsilon\epsilon\ ,\ \acute{\alpha}\epsilon\delta\acute{\iota}\alpha\ \acute{\iota}\alpha\eta\acute{\epsilon}\acute{\iota}\ \epsilon\varsigma\ \acute{\iota}\epsilon\acute{\iota}\alpha\acute{\iota}\alpha\ ,\ \acute{\upsilon}\epsilon\eta\delta\alpha\acute{\epsilon}\delta\acute{o}\upsilon\ \epsilon\varsigma\ \epsilon\epsilon\eta\delta\acute{o}\alpha\acute{\alpha})$ [1-3]. Во Всероссийском НИИ лекарственных и ароматических растений разработан эффективный противовирусный препарат из листьев облепихи “Гипорамин”, представляющий собой сухой очищенный экстракт полифенольных соединений [4-7]. Основными компонентами полифенольной фракции листьев облепихи и препарата являются гидролизуемые галло- и эллаготаннины стриктинин, изостриктинин, казуаринин, казуариктин, гипофенин В и некоторые другие (более 60% в препарате в расчете на казуаринин) [4-9]. Этим соединениям сопутствуют флавоноидные гликозиды (менее 10 %) и некоторое количество циклического полиола квебрахита [2-О-метил(-)-инозит], $C_7H_{14}O_6$, $[\alpha]D=-81,6^\circ$ (с 1,4%, H_2O) (Polamat) (I), не проявляющего противовирусной активности. Препарат “Гипорамин” выпускается в настоящее время Производственно-экспериментальным заводом ВИЛАР. При экспериментальном изучении было найдено, что, некоторые образцы растительного сырья отличались заниженным содержанием таннинов в танниновой фракции (менее 60%), в связи с чем были проведены дополнительные химические исследования сырья, заготовленного в разные сроки вегетации.

В процессе сравнительных систематических исследований дикорастущих и культивируемых образцов облепихи на содержание биологически активных соединений была выявлена динамика накопления основных компонентов препарата в течение вегетационного периода развития растений. Было найдено, что наилучшим сроком заготовки являлся июль месяц. Динамика накопления действующих веществ в данной работе изучалась на образцах листьев, полученных из зеленых побегов облепихи сортов “Подарок саду”, “Чуйская”, выращенных

на плантации Российского селекционно-технологического института садоводства и питомниководства методом зеленого черенкования.

Контроль качества образцов препарата и сырья, а также количественное определение суммарных таннинов в образцах осуществлялись методами ТСХ, спектрофотометрически с реагентами сдвига согласно проекту ВФС на субстанцию [10-11] и ТУ на лист облепихи. Компонентный химический состав активной фракции (таннинов и квебрахита) определялся разработанным в институте для этой цели методом ^1H и ^{13}C ЯМР спектроскопии на приборе Gemini 200, Varian (Нидерланды). Также, для определения содержания квебрахита в образцах, полученных из листьев облепихи, использовали метод ^{13}C ЯМР спектроскопии. В образцах, полученных из листьев облепихи, содержание квебрахита определяли по отношению интегральной интенсивности сигнала C^2 квебрахита в ^{13}C ЯМР спектре в сравнении с сигналом полуацетального углерода сахарозы. В образцах, полученных из листьев облепихи, содержание квебрахита определяли по отношению интегральной интенсивности сигнала C^2 квебрахита в ^{13}C ЯМР спектре в сравнении с сигналом полуацетального углерода сахарозы. В образцах, полученных из листьев облепихи, содержание квебрахита определяли по отношению интегральной интенсивности сигнала C^2 квебрахита в ^{13}C ЯМР спектре в сравнении с сигналом полуацетального углерода сахарозы. В образцах, полученных из листьев облепихи, содержание квебрахита определяли по отношению интегральной интенсивности сигнала C^2 квебрахита в ^{13}C ЯМР спектре в сравнении с сигналом полуацетального углерода сахарозы.

В образцах, полученных из листьев облепихи, содержание квебрахита определяли по отношению интегральной интенсивности сигнала C^2 квебрахита в ^{13}C ЯМР спектре в сравнении с сигналом полуацетального углерода сахарозы. В образцах, полученных из листьев облепихи, содержание квебрахита определяли по отношению интегральной интенсивности сигнала C^2 квебрахита в ^{13}C ЯМР спектре в сравнении с сигналом полуацетального углерода сахарозы.

$$X_{\text{KB}}\% = M_{\text{CP}}/30 \cdot 100(I_{\text{Ea}}/I_{\text{NaO}} \cdot M_{\text{Ea}}/M_{\text{NaO}}) \cdot 1,07 = 10/30 \cdot 100 \cdot (I_{\text{Ea}}/I_{\text{NaO}} \cdot 194,2/342,3) \cdot 1,07 = 20,23 \cdot I_{\text{Ea}}/I_{\text{NaO}}, \text{ где}$$

$X_{\text{KB}}\%$ – содержание квебрахита в образцах, полученных из листьев облепихи;

M_{CP} – масса образцов, полученных из листьев облепихи, 10 мг;

I_{Ea} – интегральная интенсивность сигнала C^2 квебрахита;

I_{CP} – интегральная интенсивность сигнала C^2 сахарозы;

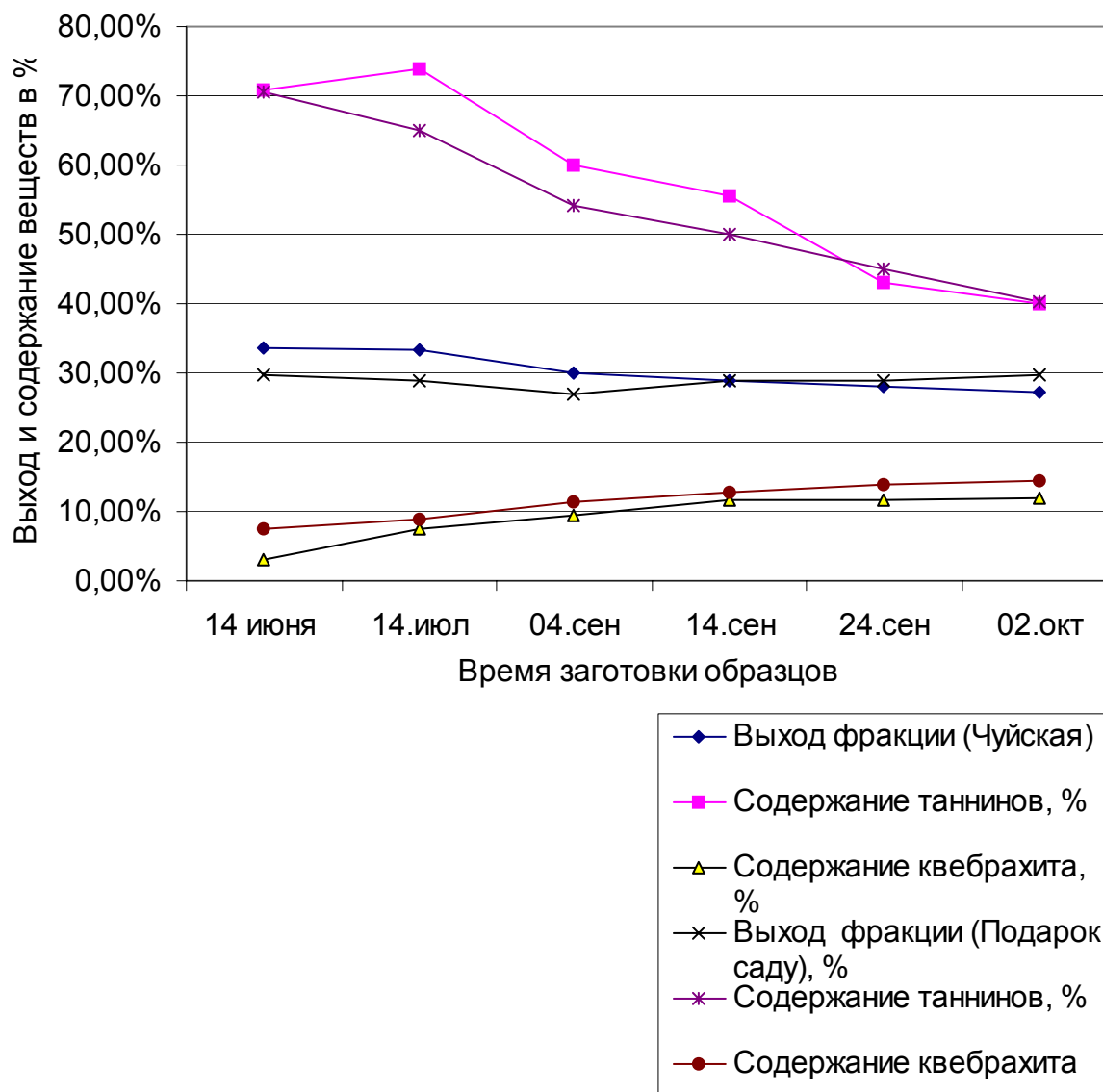
I_{Ea} – интегральная интенсивность сигнала C^2 квебрахита, 194,2;

I_{NaO} – интегральная интенсивность сигнала C^2 сахарозы, 342,3;

1,07 – поправочный коэффициент.

В образцах, полученных из листьев облепихи, содержание квебрахита определяли по отношению интегральной интенсивности сигнала C^2 квебрахита в ^{13}C ЯМР спектре в сравнении с сигналом полуацетального углерода сахарозы. В образцах, полученных из листьев облепихи, содержание квебрахита определяли по отношению интегральной интенсивности сигнала C^2 квебрахита в ^{13}C ЯМР спектре в сравнении с сигналом полуацетального углерода сахарозы.

Динамика накопления таннинов и квебрахита в танниновой фракции из облепихи крушиновидной



На рис. 1 показан график зависимости содержания таннинов и квебрахита от сроков заготовки образцов сырья, из которого видно, что выход танниновой фракции (27-34%) мало зависел от времени сбора листьев облепихи, однако отмечалось заметное снижение содержания таннинов во фракции, полученной из сырья поздних сроков вегетации (сентябрь-октябрь) (40-45%). В то же время наблюдалось трех-четырёх-кратное увеличение содержания квебрахита по сравнению с летними образцами: от 2,96% в летних образцах препарата (середина июля) до 12-14,4% в осенних образцах (сентябрь-октябрь). Максимальное накопление таннинов в препарате, напротив, происходит в середине июля, а затем их содержание

постепенно снижается в более поздние сроки вегетации. Таким образом, в целом уменьшается соотношение содержания таннинов и квебрахита в осенних образцах препарата. Полученные данные дают дополнительную информацию относительно колебаний в химическом составе и свойствах субстанции препарата.

Общеизвестно свойство таннинов образовывать соли и хелаты с ионами металлов (K^+ , Fe^{+3} и др.). Компьютерные расчеты методом молекулярной механики по программе MM2 (ChemOffice 2000) показали, что таннины типа казуаринина-казуариктина склонны давать молекулярные комплексы с квебрахитом. Этим, по-видимому, обусловлена молекулярно-биологическая роль этих соединений. Построены молекулярные модели таких комплексов. Ниже приведен рисунок комплекса казуариктина с квебрахитом (рис. 2). Для удобства распознавания молекулярной модели связи в последней изображены как “stick models”. Ранее было известно свойство таннинов образовывать ассоциаты с белками, алкалоидами и некоторыми другими веществами.

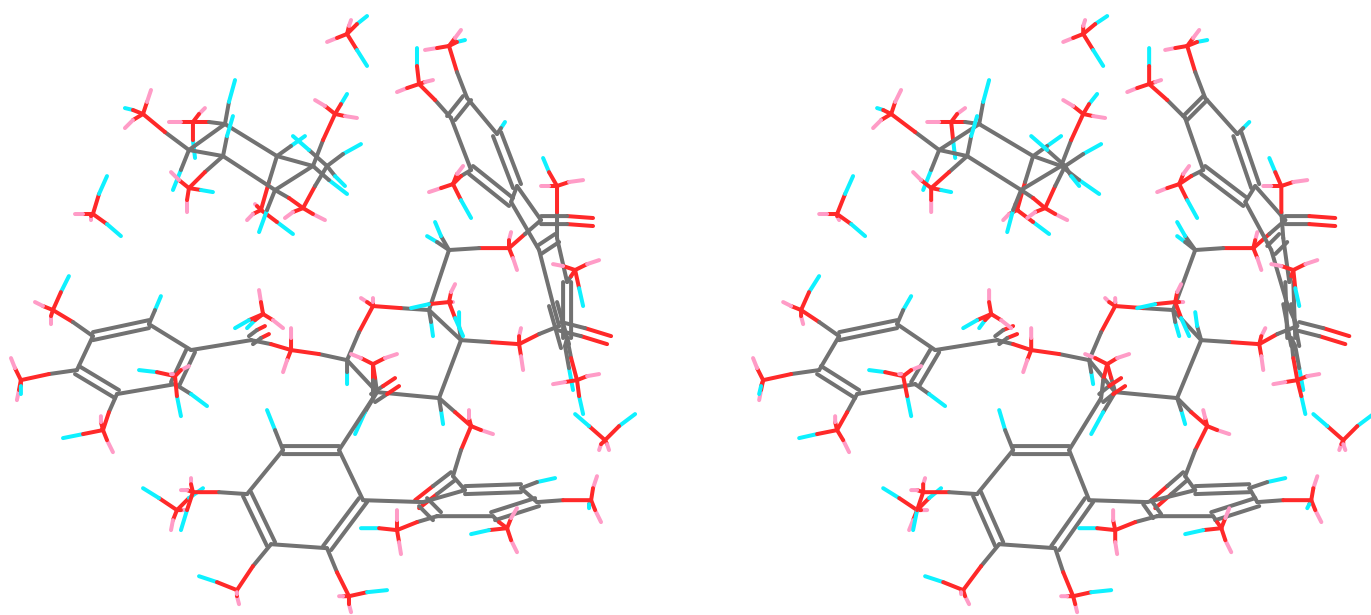


Рис. 2. Компьютерная молекулярная модель комплекса казуариктина с квебрахитом тригидратом (в стереоскопическом изображении: stick models, cross-view).

ÈÈÒÅÐÀÒÓÐÀ

1. Соколов П.Д. (гл. ред.). (1988). Растительные ресурсы СССР: цветковые растения, их химический состав и использование. Т. 4, Акад. Наук, Москва. — С. 202-207.

2. Эйдельмант А. (1998). Облепиха в медицине, косметике, кулинарии, Крон-пресс, Москва. — 376 сс.
3. Эйдельмант А.С. (1999). 3-й международный симпозиум “Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования”, 21-25 июня 1999. - Т. II. - С. 465-467.
4. Шипулина Л.Д., Ленева И.А., Федякина И.Т. (1999). VI Российский национальный конгресс “Человек и лекарство”, 19-23 апреля 1999 г., Тезисы докладов, Москва. - С. 76-77.
5. Шипулина Л.Д., Вичканова С.А., Фатеева Т.В., Крутикова Н.М. (1996). 2-й научный конгресс “Традиционная медицина: теоретические и практические аспекты”, Чебоксары, 21-23 мая 1996. - С. 107.
6. Шипулина Л.Д., Вичканова С.А., Фатеева Т.В., Крутикова Н.М., Шейченко О.П., Толкачев О.Н. (1996). III Российский национальный конгресс “Человек и лекарство”, 16-20 апреля 1996 г., Тезисы докладов, Москва. - С. 58.
7. Шипулина Л.Д., Вичканова С.А., Шейченко О.П., Толкачев О.Н. (1994). RU 2118163, 27.08.1998, Appl. 94016333, 27.04.1994, Бюлл. № 24, 1998.
8. Шейченко В.И., Шейченко О.П., Фадеева И.И., Золотарев Б.М., Толкачев О.Н. (1987). Химия природных соединений. — № 6. — С. 902-907.
9. Yoshida T., Tanaka K., Chen Xin-Min, Okuda T. (1991). Phytochemistry. — Vol. 30(2). — P. 663-666.
10. Шейченко О.П., Семенова Т.А., Толкачев О.Н. (1991). Тезисы докладов международной научно-практической конференции “Экологическая патология и ее фармакоррекция”, 26-27 июня 1991, Чита, часть 1. - С. 273.
11. Шейченко В.И., Шейченко О.П., Шипулина Л.Д., Загорий В.А., Толкачев О.Н. (1996). Второй научный конгресс “Традиционная медицина: теоретические и практические аспекты”, Материалы конгресса, часть 1, Чебоксары, - С. 106-107.

Sheichenko O.P., Sheichenko V.I., Tolkachev O.N., Grodnitskaya E.I., Isaev O.N., Tsar'kova T.F.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia,

All-Russian Selection-Technological Institute of Gardening and Plant Nursering, Moscow, Russia

DINAMICS OF TANNIN AND QUEBRACHITOL ACCUMULATION IN *HIPPOPHAE RHAMNOIDES* LEAVES

A chemical composition of Sea buckthorn (*Hippiphae rhamnoides*) leaves is studied. There have been found that the maximal maintenance of tannins in leaves and in drug were found in the middle of July while increased amounts of quebrachitol (2-O-methyl(-)-inositol) were accumulated at the autumn period of vegetation (September - October). Their maintenance correlation

curves were drawn. Computer calculation has shown that quebrachitol can form molecular complexes with hydrolyzable tannins of casuarinin-casuarictin type.

ТОЛКАЧЕВ О.Н., САВИНА А.А.

ВИЛАР, Москва, Россия

О МЕХАНИЗМЕ РЕАКЦИИ ДИСПРОПОРЦИОНИРОВАНИЯ САНГВИНАРИНА НА СИЛИКАГЕЛЕ: КОМПЬЮТЕРНЫЕ ПОДХОДЫ

Ранее нами было отмечено, что четвертичный бензо[с]фенантридиновый алкалоид сангвинарин (I), в отличие от хелеритрина (II), на поверхности силикагеля в толуоле при продолжительном контакте подвергается окислительно-восстановительной реакции диспропорционирования (смотри принципиальную схему превращений 1) [1]. Нами ранее было сделано предположение об участии в этом процессе молекул кремневой кислоты и о причинах различий в поведении близких по структуре алкалоидов этого типа. Для выяснения механизма этой реакции сангвинарина было проведено компьютерное моделирование процесса согласно высказанной ранее предположительной схемы. Структуры супрамолекулярного переходного состояния (активированного комплекса) в реакции диспропорционирования, исходных, промежуточных и конечных продуктов оценивались расчетом минимальной потенциальной энергии соединений и молекулярных комплексов методом молекулярной механики по программе MM2 (ChemOffice 2000). Найдено, что реакция протекает в четыре стадии: (1). Сорбция алкалоида на силикагеле с образованием молекулярного (ионного) ассоциата с фрагментом силикагеля (трис-*орто*-кремневой кислотой) (A) ($\Sigma E = -112,06$ ккал/моль) без учета влияния растворителя, в котором гидроксильные группы ортокремневой кислоты дополнительно связывают кислородные атомы алкалоида водородными связями. При этом отрицательно заряженный атом кислорода поликремневой кислоты находится на расстоянии 2,10 Е (рис. 1); (2). Менее основный сангвинарин (I) легче образует псевдооснование Ia по сравнению с хелеритрином (II), вследствие чего он подвергается электрофильной перегруппировке с образованием 6-О-трис-*орто*-силиката Ia структуры (B) ($\Sigma E = -0,34$ ккал/моль в вакууме, $-65,06$ ккал/мол для гексагидрата) (рис. 2); (3). Образование молекулярного комплекса В с I (переходного состояния) (C) ($\Sigma E = -83,37$ ккал/мол в вакууме) (рис. 3); и (4). Диспропорционирование комплекса (C) с образованием дигидросангвинарина (III) и оксидигидросангвинарина (IV) ($\Sigma E = 29,0$ ккал/мол), которые слабо удерживаются на поверхности силикагеля. Реакционный комплекс (C) обеспечивает переход протона Н6 из фрагмента (A) к атому С6 четвертичного компонента алкалоида I. После протекания реакции образовавшиеся

продукты III и IV освобождают активные центры для новых молекул сангвинарина и повторения процесса.

Таким образом, реакцию можно рассматривать как самопрограммирующийся процесс на силикагеле подобный ферментативному. Протеканию процесса в направлении, указанном на схеме 1, способствует соответствующая комплементарная структура компонентов в реакционном комплексе (С). На рис. 1-3 приведены молекулярные модели промежуточных соединений: валентно связанный ортосиликат сангвинарина (А), 6-О-трис-ортосиликат сангвинарина (В) и молекулярный комплекс в молекулярном переходном состоянии (С). Расчеты сделаны на примере производных трис-*орто*-кремневой кислоты. Более основный алкалоид хелеритрин (II) в аналогичных условиях на поверхности силикагеля не диспропорционирует, но подвергается другой реакции – образования димерного эфирного основания [1].

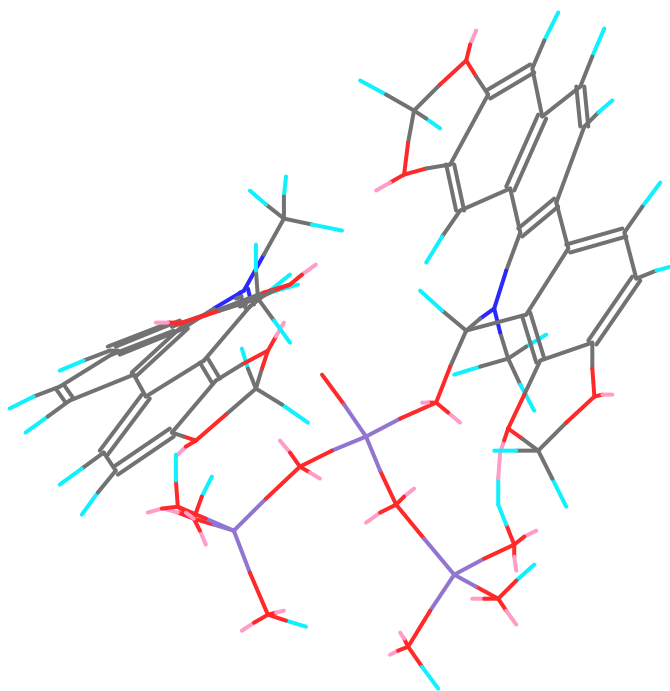


Рис. 1. Компьютерная модель молекулы трис-ортосиликата сангвинарина (ионного ассоциата) А.

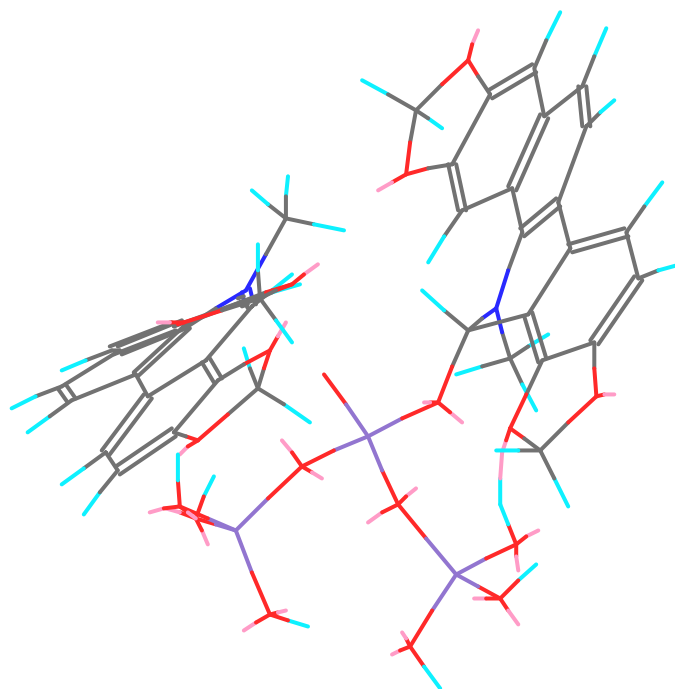


Рис. 2. Компьютерная модель молекулы 6-гидроксидегидросангвинарина трис-*орто*-силиката (В).

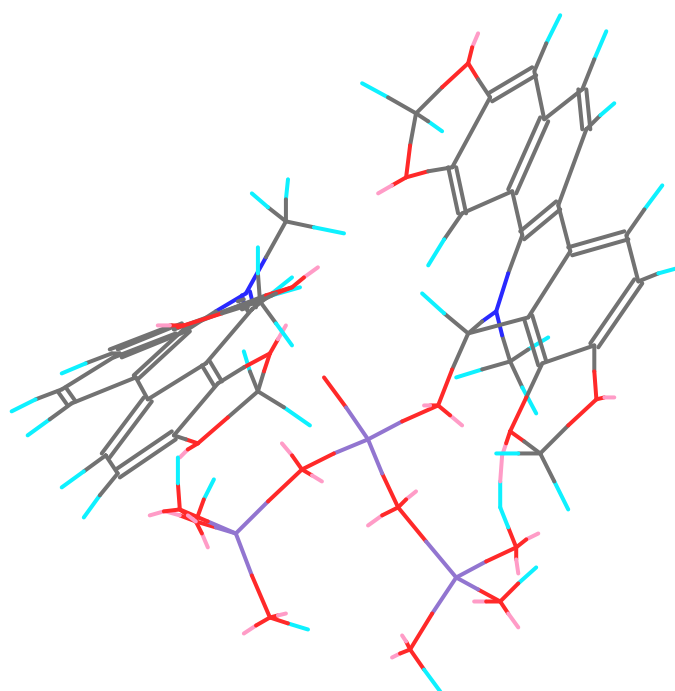


Рис. 3. Компьютерная модель активного реакционного комплекса ортосиликата псевдооснования сангвинарина с сангвинарином (С) в стереоскопическом изображении (cross view).

ЛИТЕРАТУРА

1. Савина А.А., Толкачев О.Н., Шейченко В.И., Проскудина В.В. (1999). О диспропорционировании алкалоида сангвинарина на силикагеле, Химико-фармацевтический журнал. – Т. 33(4). – С. 25-28.

Tolkachev O.N., Savina A.A.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

**ABOUT THE MECHANISM OF DISPROPORTIONATION REACTION OF
SANGUINARINE ON SILICA GEL: COMPUTER APPROACHES**

Four step mechanism of disproportionation reaction of sanguinarine on silica gel is discussed. Computer molecular models of intermediates are presented.

МАЙСУРАДЗЕ Н.И., ЧЕРКАСОВ О.А., ТОЛКАЧЕВ О.Н.

ВИЛАР, Москва, Россия

**НАРЦИССЫ - ПЕРСПЕКТИВНЫЕ РАСТЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ СЫРЬЯ ДЛЯ
ПРОИЗВОДСТВА ГАЛАНТАМИНА**

Алкалоид галантамин был впервые выделен в 1952 г. из подснежника Воронова (*Galanthus woronowii* A. Los.) [1], содержание которого в растении достигает 0,7-0,8%. Галантамин нашел применение в медицине в качестве средства, обладающего антихолинэстеразной активностью, при лечении миастений, миопатий, в восстановительном периоде после перенесенного полимиелита и других случаях нарушения нервной проводимости, как антидот мышечных релаксантов при хирургическом вмешательстве [2-4]. В последние годы была показана эффективность галантамина при лечении болезни Альцгеймера [5-6].

Подснежник Воронова - травянистый луковичный многолетник семейства *Amaryllidaceae*, произрастающий в Закавказье от Туапсе до Батуми. Общая масса растения невелика. Подснежник Воронова имеет луковицу, достигающую 2,5 см в диаметре, а также ланцетные листья длиной 10-20 см [7]. Небольшой размер популяций подснежника Воронова не позволяет использовать его в качестве надежной сырьевой базы для производства галантамина. В Болгарии галантамина гидробромид (нивалин) производят из подснежника белоснежного (*Galanthus nivalis* L.). Опыт работы с подснежниками на интродукционном участке ВИЛР показал, что растения плохо переносят механизированную обработку междурядий, что затрудняет введение их в промышленную культуру на больших площадях.

Галантамин содержится также в представителях родов унгерния и белоцветник. Высоким содержанием галантамина отличается унгерния Виктора (*Ungernia victoris Vved.*), произрастающая в Таджикистане в районе Гиссарского хребта (до 0,05-0,004%), которая являлась основным источником его получения в СНГ. В условиях Московской области растения унгернии не давали прироста и их луковицы постепенно истощались, уменьшаясь в диаметре.

Положительные результаты были получены при интродукции белоцветника летнего (*Leucojum aestivum L.*). Большие его заросли имеются в Закавказье, на заболоченных участках Колхиды. Отдельные популяции белоцветника летнего встречаются в Закавказье. Однако его популяции отличаются низким содержанием галантамина и могут быть использованы лишь для отбора лучших форм при введении его в культуру. Богаты галантамином закавказские популяции, но они встречаются небольшими куртинами и могут быть использованы только как источник посадочного материала. Другой вид белоцветника - белоцветник весенний (*Leucojum vernum L.*) - широко распространен в Карпатах, но его популяция характеризуется в целом низким содержанием галантамина.

В литературе имеются сведения о наличии галантамина в нарциссах, также принадлежащих к семейству амариллисовых [8]. Род нарцисс насчитывает около 60 видов, произрастающих в Южной Европе и Средиземноморье. Нарциссы – древнейшая декоративная культура Ирана, Греции, Рима, Египта. Название цветку дал Гиппократ в V-IV веках до нашей эры. В настоящее время нарциссы широко распространены и культивируются в декоративных целях садовые формы нарциссов, которые насчитывают свыше 12 тысяч сортов [9-10]. Они объединены в одну группу нарцисса гибридного – *Narcissus hybridus hort.* Первая гибридная форма нарцисса появилась в Англии. В зависимости от происхождения, формы и размеров цветка нарциссы делят на 11 групп. Наиболее многочисленными группами являются трубчатые, крупнокорончатые, мелкокорончатые и тацетные нарциссы. На территорию СНГ нарциссы завезены из Голландии в 1947 г.

Систематическое изучение луковичных проводится в БИНе с 1954 г. С этого времени нарциссы, несмотря на небольшой срок начала работ, успешно интродуцируются во всех климатических зонах Российской Федерации за исключением Крайнего Севера. При этом они используются в декоративном садоводстве как для выгонки в условиях теплиц, так и для возделывания в условиях открытого грунта.

Нарциссы имеют достаточную вегетативную массу. Луковицы трубчатых, крупнокорончатых и тацетных нарциссов делят на следующие категории:

луковицы первой категории – диаметр луковицы 4,0-4,9 см;

луковицы второй категории – диаметр луковицы 3,0-4,9 см;

детка первой категории – диаметр 2,0-2,9 см;

детка второй категории – диаметр меньше 2,0 см.

Луковица состоит из чешуй, часть из которых представляет собой низовые листья, а другая часть – мясистые основания ассимилирующих листьев. Донце луковицы представляет собой укороченный стебель. Надземная часть стебля представлена цветоносом, лишенным листьев. Листья у нарцисса линейные, расположены в приземном пучке.

Поскольку луковица является запасующим органом, растению легче перенести неблагоприятные условия внешней среды. Это в значительной степени обуславливает пластичность луковичных растений и, в частности, нарциссов, могущих произрастать в различных почвенно-климатических условиях.

Предварительное изучение нарциссов в качестве потенциального источника сырья для производства галантамина было осуществлено нами путем анализа луковиц и листьев шести сортов выгончных нарциссов. Галантамин был обнаружен во всех исследуемых образцах. При этом он содержался в равных количествах в листьях и в луковицах растений. Наибольшее содержание галантамина обнаружено в листьях сорта «Эдвард Баксон» (0,20% в пересчете на абсолютно сухую массу). Такое же количество галантамина было обнаружено и в луковицах этого сорта [11]. В связи с этими перспективными результатами было решено провести широкий скрининг сортов нарциссов на содержание в них галантамина.

На интродукционном участке ВИЛАР была заложена коллекция нарциссов, состоящая более, чем из 100 сортов. Участок к посадкам начали готовить с осени предыдущего года, внося под зяблевую вспашку компост из расчета по 60 т/га. Весной провели дискование. В течение сезона вегетации участок держали под паром. Луковицы высаживали в сентябре в борозды, нарезанные тракторным окучником. Схема посадки 60 x 12 см. В дальнейшем нарциссы ежегодно подкармливали минеральными удобрениями (нитрофоской) из расчета по 90 кг/га азота, фосфора и калия. Уход за растениями включал 2-3 междурядные тракторные обработки и 2-3 прополки в рядках. На многолетних посадках в конце сезона вегетации при необходимости проводили скашивание сорняков. В результате было установлено, что галантамин содержится в большинстве изученных сортов: трубчатых, крупнокорончатых, мелкокорончатых, махровых, тацетных, жонкилиевых и разрезнокорончатых нарциссов [12-15]. В сырье нарциссов сортов «Бирма» (*Birma*), «Хевлок» (*Havelock*), «Галилей» (*Galiley*), «Дьюк оф Виндзор» (*Duke of Windsor*), «Инглескомб» (*Inglescombe*), «Понтресина» (*Pontresina*), «Ред Раскал» (*Red Rascal*), «Сильвер Стандарт» (*Silver Standard*), «Эдвард Баксон» (*Edward Buckson*) содержание галантамина достигало 0,2%.

Среди промышленных сортов как источник галантамин-содержащего сырья представляет интерес сорт «Форчун» (*Fortune*), относящийся к группе крупнокорончатых нар-

циссов. Сорт «Форчун» широко распространен в хозяйствах и рекомендован как для посадок в открытом грунте, так и для выгонки в теплицах.

Содержание галантамина в листьях и в луковицах сорта «Форчун» во время цветения достигает 0,15%. Средняя продуктивность сырых листьев одного растения на первом году вегетации или при выгонке составляет 17 г. При размещении на 1 га 150 тыс. растений и усушке листьев в 10 раз с одного гектара плантации нарциссов можно получить 2,0-2,5 ц воздушно-сухого сырья. При высадке луковиц первой категории в первый год вегетации может быть получена и большая масса листьев – 20-25 г. Наибольшая масса листьев может быть получена в период цветения нарциссов, поскольку в этот период практически прекращается рост их листьев (таблица 1-2). В этот же период в листьях накапливается наибольшее количество галантамина (таблица 3). Таким образом, срезку листьев нарциссов на сырье целесообразно проводить в сжатые сроки в период цветения растений.

В опытах по кратности срезки листьев установлено, что ежегодная их срезка сильно истощает растения. Так при посадке луковиц со средней массой 27,7 г на пятом году вегетации в варианте без срезки листьев средняя масса луковиц в гнезде равнялась 144,2 г, а с ежегодной срезкой листьев 19,2 г. В варианте со срезкой листьев через год масса луковиц в гнезде равнялась 83,2 г и в варианте со срезкой листьев через два года – 110,1 г. Средняя масса листьев на одно растение в контрольном варианте на пятом году вегетации равнялась 45,9 г, а в варианте с ежегодной срезкой - 13,2 г. В варианте со срезкой листьев через год масса листьев равнялась 42,8 г, при срезке листьев через два года масса листьев не отличалась от контрольной и составила 47,7 г. Таким образом, в зависимости от качества посадочного материала, повторную срезку листьев на сырье целесообразно проводить через год или два года после первой срезки. В дальнейшем срезку листьев можно проводить через год или через два года вегетации растений. При срезке листьев через два года растений продуктивность сырых листьев не отличалась от контрольной и составила 47,7 г на растение. Первую срезку листьев целесообразно проводить на втором году вегетации после посадки луковиц.

Для получения галантамина могут быть использованы луковицы нарциссов. В луковицах наибольшее количество галантамина содержится в период относительного покоя растений. Средняя масса луковиц сорта Форчун 1 категории при посадке равнялась 27,7 г. В почвенно-климатических условиях Подмоскovie в течение сезона вегетации происходит удвоение массы высаживаемых луковиц нарциссов. Таким образом, при учете динамики нарастания массы луковиц одного гнезда нарциссов сорта Форчун, она в начале второго года вегетации равнялась 37,8 г, а в конце вегетации – 72,4 г (таблица 2). Осенью часть полученных луковиц может быть использована на сырье, а часть вновь высажена в поле. По этой схеме

при использовании на сырье луковиц нарциссов с одного гектара можно ежегодно получать 5-7 ц воздушно-сухого сырья.

На лекарственное растительное сырье могут быть использованы листья после выгонки нарциссов в теплицах, а также поврежденные луковицы, оставшиеся после разбора урожая в хранилищах.

Галантамин содержится не только в листьях и в луковицах, но также и в стрелках (цветоносах) нарциссов. Это позволяет использовать на сырье всю надземную часть растений, включающую листья и цветоносы (таблица 3).

Интересные данные получены при анализе содержания галантамина в листьях нарциссов при выгонке их в теплице ВИЛАР. Среднюю пробу листьев срезали с партии выгоночных нарциссов с 22 февраля по 13 апреля 1982 г. через каждые 3-5 дней. Наибольшее количество галантамина обнаружено в период отрастания (22 февраля – 0,14%). В последующие дни вплоть до 5 апреля (фазы бутонизации, начала и массового цветения и периода после цветения) наблюдалось практически линейное снижение содержания алкалоида до 0,03% к 35 дню после конца цветения (смотри таблицу 3). Данные таблицы свидетельствуют о том, что выгоночные нарциссы могут быть успешно использованы в качестве источника галантаминсодержащего сырья, поскольку срезка листьев нарциссов после срезки цветков при выгонке предусмотрена технологией.

Срезку надземной части можно проводить в период от начала бутонизации до конца цветения. При срезке цветков на реализацию листья необходимо заготавливать в возможно более короткие сроки, так как после цветения содержание галантамина в листьях снижается.

При выращивании нарциссов на Юге луковицы выкапывают каждый год, поскольку высокие летние температуры почвы способствуют распространению болезней. При выращивании нарциссов в средней полосе возможна многолетняя культура. Мы выращивали нарциссы на одном месте в течение 5 лет. При выкопке на каждое гнездо приходилось в среднем по 4-5 луковиц, из них 3 луковицы составили товарную фракцию (луковицы первой и второй категорий); остальной урожай был представлен деткой первой и второй категорий). Поскольку при выращивании на одном месте в течение ряда лет луковицы мельчают, при выращивании нарциссов на луковицу, растения выкапывают каждый год.

Выкопку луковиц начинают в период пожелтения листьев. При механизированной уборке луковиц на небольших участках мы с успехом применяли картофелекопатель КТН-1А. После выкопки растений, срезают остатки листьев и луковицы подсушивают, раскладывая на ситах в тени под навесами. Затем луковицы перебирают, отделяют больные и сортируют оставшиеся по категориям. Дочерние луковицы отделяют от материнских, не применяя усилий. Подсушку заканчивают когда высыхают корни. Их отделяют легким прокручивани-

ем. Отсортированные луковицы раскладывают тонким слоем в ящики и хранят в штабелях под навесом до посадки.

В период хранения или перед посадкой можно провести протравливание луковиц для борьбы с болезнями и вредителями. Применяют также прогревание луковиц в горячей воде. В средней полосе нарциссы поражаются болезнями значительно реже, чем на юге. Поэтому в большинстве случаев мы обходились без применения ядохимикатов, ограничиваясь отбраковыванием больных луковиц в период хранения. Пораженные луковицы составляют обычно 1-3 процента.

Оптимальным сроком посадки луковиц в средней полосе является период с конца августа до конца сентября. Посадку проводят в хорошо подготовленную почву в борозды, нарезанные тракторным окучником. При посадке над луковицей должен быть слой почвы, равный полутора-двум диаметрам луковицы. До наступления устойчивого похолодания луковицы укореняются и в таком виде перезимовывают. Мы не применяли укрытий нарциссов на зиму и при этом не отмечали случаев вымерзания растений.

Агротехника нарциссов разработана. Ежегодный уход за растениями включает одну-две минеральные подкормки из расчета по 90 кг/га азота, фосфора и калия, рыхление междурядий и мероприятия по борьбе с сорняками.

Таблица 1

Динамика отрастания листьев нарциссов сорта «Форчун» (1984 г.)

Условия и год посадки	Дата наблюдений и длина листьев, см						
	7.05.84	16.05.84	24.05.84	28.05.84	31.05.84	4.06.84	11.06.84
Ё I, 1982	25,9±0,7	32,9±1,0	35,4±1,3	36,8±1,1	35,4±0,9	36,4±1,0	37,2±1,2
Л II, 1981	24,5±0,6	31,8±0,8	34,2±0,8	35,0±0,9	34,9±0,9	35,7±1,1	Роста нет
Л I, 1977, выгонка	27,1±1,2	38,8±1,5	39,8±1,2	43,3±1,8	43,0±2,0	44,0±1,9	
Л II, 1982, выгонка, срезка листьев	21,7±0,5	27,3±0,6	28,8±0,6	30,9±0,6	30,2±0,6	30,8±0,6	
Л II, 1982 без срезки листьев	20,6±0,7	25,9±0,5	27,5±0,7	29,1±0,6			

Продолжение таблицы 1.

Л I, 1981, выгонка, срезка листьев	25,0±0,7	32,4±0,7	35,6±0,6	36,4±0,6	37,9±0,5	38,6±0,5	
Л I, 1981, без	23,5±0,7	30,5±0,8	33,3±0,5	33,5±0,8	36,6±0,9	37,1±0,8	

срезки листьев							
----------------	--	--	--	--	--	--	--

Таблица 2

Формирование вегетативной массы нарциссов сорта «Форчун» в течение сезона вегетации

Дата	Листьев			Надзем- ная мас- са, г	Луковиц		Точек роста, шт	Масса надзем- ная, г
	Длина, см	Число, шт	Масса, г		Масса, г	Диа- метр, см		
Второй год вегетации, 1983 г.								
06.04	11,1±0,4	7,7±0,9	8,0±0,8	52,1±5,3	37,8±2,5	3,6±0,1	3,4±0,3	
25.04	31,2±1,0	7,7±0,4	25,9±2,1	43,4±3,4	33,9±3,0	3,7±0,2	2,7±0,2	39,7±2,9
11.05	43,9±1,2	7,4±0,5	35,2±3,0	43,3±2,5	38,4±2,1	3,7±0,1	2,5±0,2	42,3±3,8
05.06	49,9±1,1	8,3±0,3	36,2±3,9	67,0±4,2	72,4±5,8	4,3±0,1	3,5±0,1	
Первый год вегетации, 1983 г.								
06.04	11,7±0,4	9,0±0,6	10,0±0,7	62,8±3,1	46,5±2,6	4,1±0,1	3,0±0,2	
25.04	29,8±0,8	7,5±0,5	22,8±2,2	46,8±3,3	39,7±2,9	4,0±0,1	2,5±0,2	33,1±3,3
11.05	39,6±2,9	6,5±0,5	25,2±2,2	41,6±2,7	38,1±2,6	3,9±0,6	2,8±0,2	30,5±2,7
02.06	43,0±1,1	7,9±0,6	25,2±2,9	66,7±4,9	59,8±3,8	4,0±0,1	3,2±0,2	

Таблица 3

Динамика содержания галантамина в листьях нарцисса сорта Форчун в 1982 году:

В теплице		
Дата сбора	Фаза развития	Галантамин, %
22.02	Отрастание	0,14
26.02	Бутонизация	0,13
01.03	Начало цветения	0,11
02.03	5 дней после срезки цветков	0,11
04.03	Массовое цветение	0,09
09.03	Конец цветения	0,09
11.03	15 то же	0,08
16.03	20 -	0,08
19.03	23 -	0,07
24.03	28 -	0,06
29.03	33 -	0,06
02.04	37 -	0,03
05.04	40 -	0,03
16.03	7 дней после конца цветения	0,09
17.03	8 то же	0,08
19.03	10 -	0,08
24.03	15 -	0,08
29.03	20 -	0,08
02.04	24 -	0,07

Продолжение таблицы 3

05.04	27 -	0,05
09.04	31 -	0,04
13.04	35 -	0,03

Участок интродукции ВИЛАР		
03.05	Бутонизация	0,21
07.05	Начало цветения	0,07
12.05	Массовое цветение	0,08
13.05	Конец цветения	0,06
20.06	Конец вегетации	0,0
03.05	Бутонизация	0,11
07.05	Начало цветения	0,10
12.05	Массовое цветение	0,07
20.06	Конец вегетации	0,0

ЛИТЕРАТУРА

1. Проскурнина Н.Ф. и Яковлева А.П. (1952). Об алкалоидах *Galanthus woronowii*. II. О выделении нового алкалоида, *Журнал общей химии*. - Т. **22**(10). – С. 1899-1902.
2. Машковский М.Д. (1955). Влияние галантамина на чувствительность скелетной мускулатуры к ацетилхолину, *Фармакология и токсикология*. Т. **18**(4). - С.21-27.
3. Машковский М.Д. (1984). Лекарственные препараты, Медицина, Москва, Часть 1. - С. 222-224.
4. Соколов С.Я. и Замотаев И.П. (1989). *Справочник по лекарственным препаратам*, Фитотерапия, Металлургия, Москва. - С. 84-86.
5. Fulton B. and Benfield P. (1996). Galanthamine, *Drugs Aging*. – Vol. **9**(1). – P. 60-65.
6. Selles M., Bergonon S., Viladomat F., Bastida J. and Cidina C. (1997). Effect of sucrose on growth and galanthamine production in shoot-clump cultures of *Narcissus confusus* in liquid-shake medium, *Plant Cell Tissue Organ Culture*. – Vol. **49**(2). – P. 129-136; *Chemical Abstracts*, **127**, 290600a (1997).
7. Артюшенко З.Т. (1970). *Амариллисовые СССР, Морфология, таксономия и использование*, Наука, Л., 177 стр.
8. Boit H.J. (1961). *Ergebnisse der Alkaloid-Chemie bis 1960*. Akademie-Verlag, Berlin. - S. 410-475.
9. *Classified List and International Register of Daffodil Names*, London, 1961, pp.
10. *Classified List and International Register of Daffodil Names*, 1960-1975, London, 1975, pp.
11. Майсурадзе Н.И., Черкасов О.А. и Стихин В.А. (1985). Листья нарцисса как сырье для получения галантамина, *Химико-фармацевтический журнал*. - Т. **19**(3). - С. 190-192.
12. Черкасов О.А., Горбунова Г.М., Маргвелашвили Н.Н., Майсурадзе Н.И. и Толкачев О.Н. (1986). Содержание галантамина в листьях *Narcissus hybridus hort.*, *Растительные ресурсы*. - Т. **22**(3). - С. 370-372.

13. Черкасов О.А., Тохтабаева Г.М., Маргвелашвили Н.Н., Майсурадзе Н.И. и Толкачев О.Н. (1988). Содержание галантамина в некоторых сортах *Narcissus hybridus hort.*, *Растительные ресурсы*. - Т. **24**(3). – С. 414-420.
14. Черкасов О.А., Майсурадзе Н.И., Глызина Г.С. и Гаевский А.В. (1993). Содержание галантамина в некоторых сортах *Narcissus hybridus hort.*, *Растительные ресурсы*. - Т. **29**(4). - С. 81-87.
15. Черкасов О.А., Майсурадзе Н.И., Глызина Г.С. и Гаевский А.В. (1989). Нарциссы как источник сырья для получения галантамина, *Химико-фармацевтический журнал*. - Т. **23**(5). - С. 621-623.

Maisuradze N.I., Cherkasov O.A., Tolkachev O.N.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

NARCISSUS – PROSPECT PLANTS AS THE SOURCES FOR GALANTHAMINE PRODUCTION

There were studied cultivation conditions of Narcissus species and dynamics of galanthamine accumulation in the plant organs during the vegetation period. Narcissus population “Fortune” was shown to be prospective culture for commercial exploitation as the source for galanthamine production.

ТОЛКАЧЕВ О.Н., САВИНА А.А.

ВИЛАР, Москва, Россия

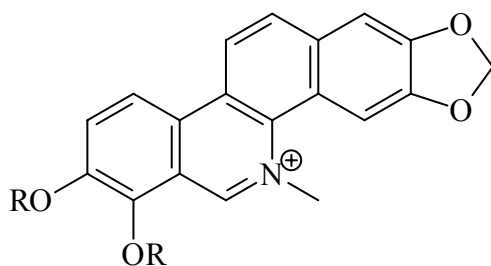
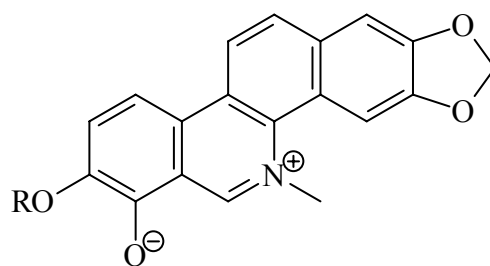
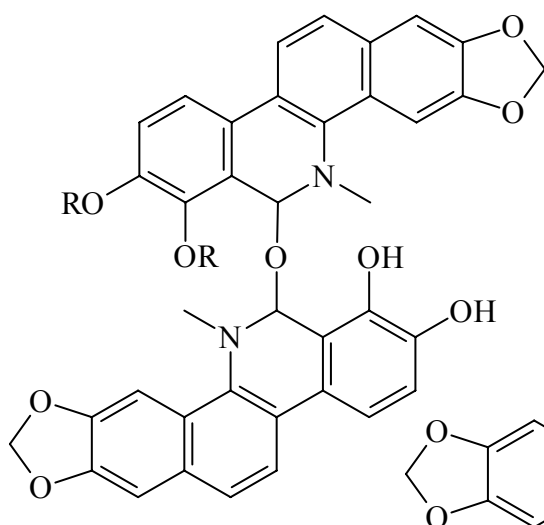
К СТРУКТУРЕ ГЛУБОКО ОКРАШЕННЫХ ПИГМЕНТОВ ИЗ МАКЛЕИ МЕЛКОПЛОДНОЙ

Четвертичные бензо[с]фенантридиновые алкалоиды представляют большой интерес как биологически активные вещества антимикробного, противоопухолевого, антихолинэстеразного и другого действия. На основе некоторых из них, например, сангвинарина и хелеритрина, разработаны антимикробные препараты “сангвиритрин” из травы маклеи мелкоплодной и м. сердцевидной (*Macleaya microcarpa*, *M. cordata*) (Россия), “сангвинарин” из корней *Sanguinaria canadensis* (США), “санхелин” из чистотела большого (*Chelidonium majus*) (Чехия) и др. [1-3], которые различаются технологией получения препарата и количеством примесей сопутствующих в растительном сырье алкалоидов. Большое количество публикаций и патентов посвящено изучению антимикробной и физиологической активности индивидуальных алкалоидов сангвинарина (I), хелеритрина (II) и препаратов на их основе в их комбинации с другими веществами [4-7], главным образом для применения в стоматологии,

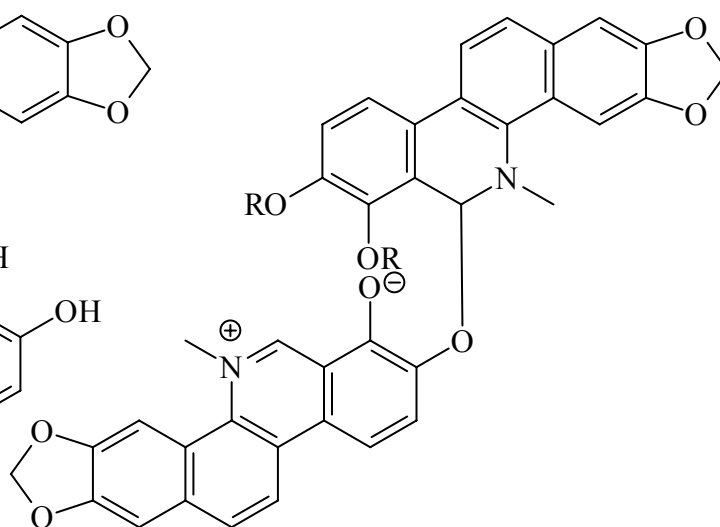
косметологии [8-15]. В последнее время соединения этого типа привлекают внимание исследователей также в связи с выявленными новыми особенностями их химического поведения.

Соли четвертичных алкалоидов этого ряда являются окрашенными соединениями (сангвинарин окрашен в оранжевый цвет, хелеритрин - в желтый, хелирубин - в красный и т.д.), в связи с чем они четко идентифицируются по цвету пятен на хроматограммах в тонком слое силикагеля по их естественной окраске. Цвет алкалоидов зависит от характера заместителей, их положения в ядре и от кислотности среды. Соответствующие основания, имеющие структуру карбиноламинов, их О-алкил-производные, а также тетрагидропроизводные этих алкалоидов практически бесцветны, но имеют характеристичный цвет флуоресценции в УФ свете.

В процессе получения антимикробного препарата сангвиритрина (суммы бисульфатов сангвинарина и хелеритрина) [16-17] из водных и органических растворов бензо[с]фенантридиновых алкалоидов маклейи мелкоплодной и маклейи сердцевидной выделены побочные глубоко окрашенные вещества ("Ч"), нерастворимые в воде, хлороформе, этилацетате, растворимые в ДМСО, CF_3COOH , AsOH и разбавленных водных щелочах (NaOH , KOH), но медленно при нагревании. При обработке веществ "Ч" 5-10% серной кислотой они взаимодействуют с образованием бисульфатов алкалоидов, которые по данным ПМР-спектров соответствуют смеси бисульфатов I и II. При этом доля суммы I и II составляет около 50% от массы вещества пигментов "Ч". На хроматограммах (ТСХ на силикагеле марке 'Silufol') NH_4OH показали наличие пятен сангвинарина, хелеритрина и фиолетового пигмента близ стартовой линии. Таким образом, это свидетельствует о том, что эти вещества являются смесью соединений, в которых фрагменты молекул I и II H_2N с фенольным компонентом. Последние в воднокислотной среде гидролизуются до мономерных единиц. Недавними исследованиями чешских авторов подтверждена димерная эфирная структура оснований сангвинарина и хелеритрина [18-19], причем карбиноламинная форма псевооснований алкалоидов являются промежуточной формой в процессе их димеризации.

I 2R=CH₂ II R=CH₃III R=CH₃ IV R=H

V



VI

A 2R=CH₂ B R=CH₃

На хроматограммах в тонком слое силикагеля или окиси алюминия полученные вещества “Ч” проявляются в виде фиолетовой зоны на стартовой линии, которые при длительном элюировании не диссоциируют на мономерные компоненты, что подтверждает наличие в них ковалентной связи между мономерными единицами. Глубокая окраска веществ говорит об их цвиттерионной или хиноидной структуре. В одной из предыдущих публикаций нами было сообщено о получении подобного вещества - N-метилдекарин (7-О-деметилхелеритрина) (III), окрашенного в фиолетовый цвет и доказана цвиттерионная структура соединения [20-21]. Ранее также было показано, что при длительном стоянии (несколько лет), а также при кислотном гидролизе сангвинарина бисульфат (I) превращается в протокатеховое производное (7,8-О,О-деметилен-сангвинарин) (IV) [22], легко образующее основание фиолетового цвета. Попытки прямого определения структуры димерных соединений методом спектроскопии ¹H ЯМР в растворе D_2O и $\text{DMSO}-d_6$ не дали положительных результатов. Из данных химического поведения веществ (образование при гид-

ролизе I и II, а также 7,8-O,O-деметиленсангвинарина (IV) следует, что соединения “Ч” являются ковалентными ассоциатами этих алкалоидов с фенольными веществами бензо[с]фенантридинового ряда и их предполагаемая структура может быть выражена формулами Va,b и VIa,b.

Сказанное свидетельствует о димерной структуре соединений, содержащих в одном из компонентов сильный хромофор. Можно предположить два варианта структуры соединений: (а) димеры, подобные эфирному соединению типа димера основания хелеритрина [23] (Va,b), однако в этом случае нельзя объяснить глубокую окраску соединений и некоторые их химические свойства; (б) псевдооснования сангвинарина и хелеритрина связаны с другим хромофорсодержащим компонентом молекулы эфирной связью с фенольным гидроксиллом при C^8 (VIa,b). Кислородный атом при C^7 , несущий отрицательный заряд, не может участвовать в образовании межмолекулярной ковалентной связи с другой молекулой из-за резонансной стабилизации бетаиновой структуры. Эти вещества дают водно-щелочные растворы, окрашенные в коричневато-желтый цвет. Гидрофобные свойства соединений обусловлены тем, что кислородный атом, несущий отрицательный заряд, трудно доступен для атаки катионом щелочного металла. В водно-щелочных растворах соединения, по-видимому, находятся в карбиноламинной форме.

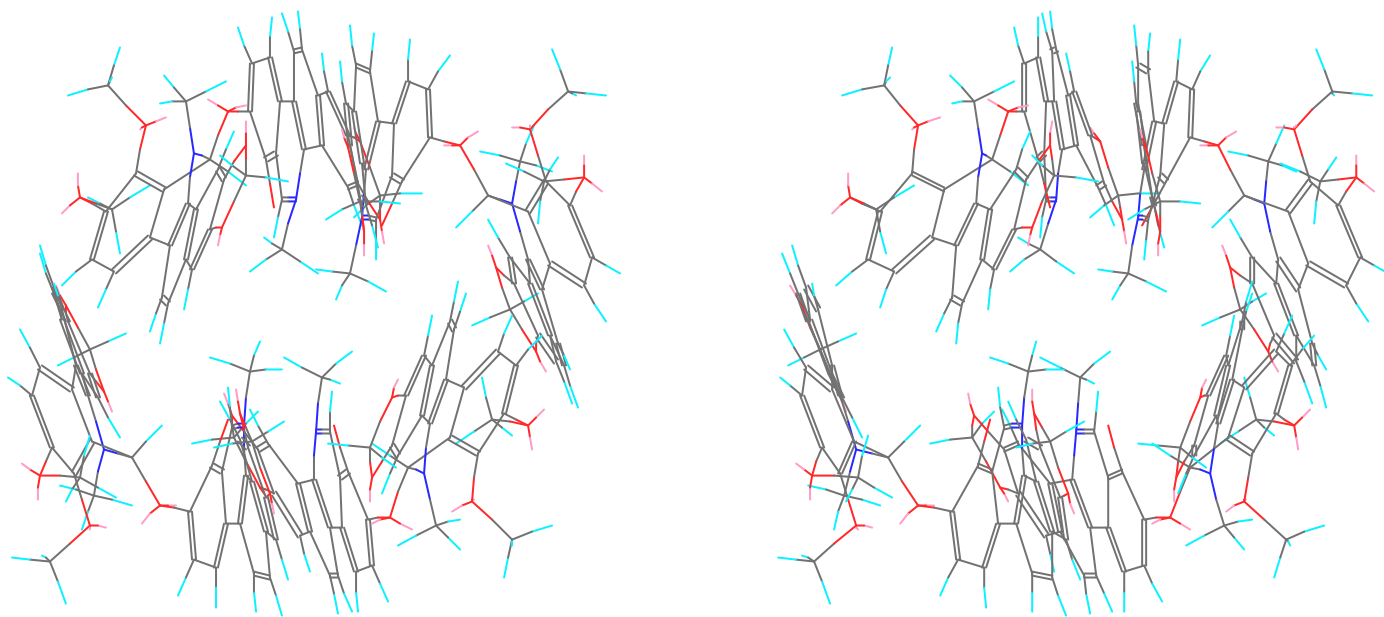
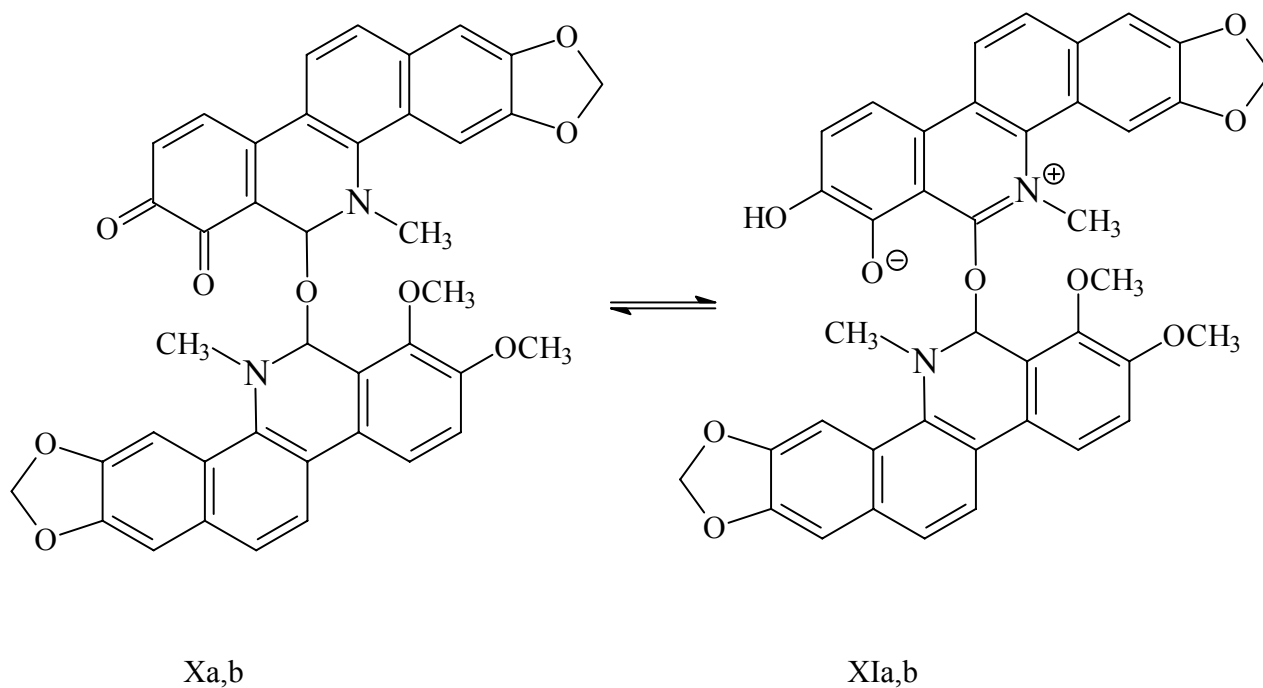
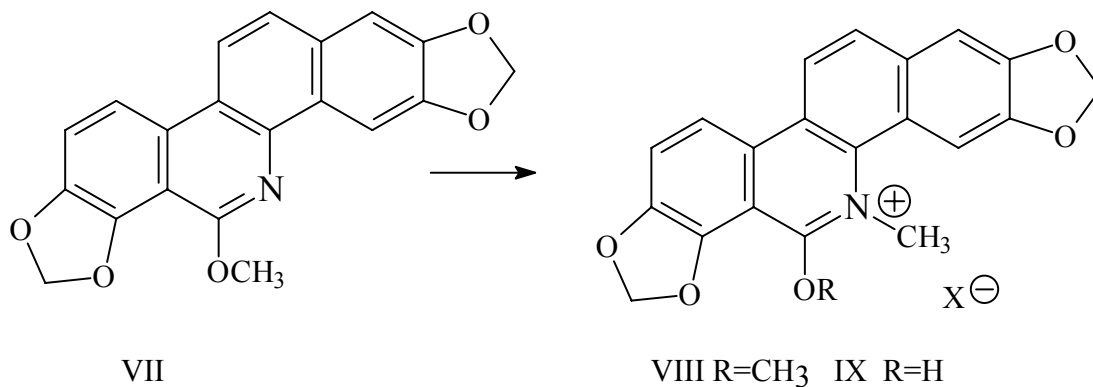


Рис. 1. Компьютерная молекулярная модель двойного ассоциата димера пигмента (VIb...VIb) [8'-Î-(5,6-дигидрохелеритрил-6)-(7,8-âîâðèëáîîâîââèðèðè) бетаина].

Компьютерное моделирование методом молекулярной механики по программе MM2 (ChemOffice 2000) дает наиболее вероятные модели двойных (симметричных и несимметричного) ассоциатов димеров структуры (VIa...VIa, VIa...VIb, VIb...VIb) (на рисунке 1 при-

ведена молекулярная модель симметричного ассоциата $Vb...Vb$, $\Sigma E = -110,43$ ккал/моль). Указанные вещества, можно полагать, являются артефактами, образующимися в процессе химической переработки растительного сырья (гидролиза и/или окисления).

Nõuad 2

[illegible]

Áàçèðóÿñü ìà ìðèàààííüð â ýòé ðàáíðà ààííüð, àèìàðíüà ìñííàáíèÿ Va,b ìðè àòòíèèñèáíèè
 могут íàðàçíààòü ÷àòààððè÷íüà ìðèèçáíííüà, ààðüèà òàèòòàðèíííüà ñòðóèòóðü, òàèæà
 óáíæàòàíðÿòüè òñèíàèÿ è ððííòíðó (èìàðóò óó æà ñíðÿæáííóò ñèñòáíó è òàèòòàðèíííóò
 ñòðóèòóðó). Á ðàçóèüòàòà àíçíæíü àèüòàðíàòèáíüà ààðíÿòíüà ñòðóèòóðü æÿ àüààèáííííè ìèáííòà
 “×” (Xa,b-XIa,b). Íáíàèí èííüòòàðííüà ðàñ÷àòü ìèèèàèüííè ñòáíòèàèüííè ýíàðàèè ààòò ìðàáí÷òàíèà
 àèìàðííü òíðíóèàí òèà VIa,b.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вичканова С.А., Толкачев О.Н., Мартынова Р.Г., Арзамасцев Е.В. (1982). Химико-фармацевтический журнал.— Т. **16**(12). — С. 107-112.
2. Щавлинский А.Н., Мартынова Р.Г. (1985). Новые лекарственные средства растительного происхождения, ЦБНТИ Минмедпрома, Проспект. - С. 13-15.
3. Stermitz F., Larson K.A., Kim D.K. (1973). J. Med. Chem.— Vol. **16**(8). — P. 939-940.
4. Stermitz F., Gillespie J.D., Amoros L.S., Romero R., Stermitz T.A., Larsen K.A., Early E. (1975). J.E.Org. J. Med. Chem.— Vol. **18**(). — P. 708.
5. Dzink J.L., Socransky S.S. (1985). Antimicrob. Agents Chemother.— Vol. **27**(4). — P.663-665.
6. Valterova D., Ulrichova J., Valka I., Vicar J., Vavrechova C., Toborska E., Harkrader R.J., Meyer D.L., Cerna H., Simanek V. (1996). Acta Univ. Palacki, Olomuc. Fac. Med.— Vol. **139**. — P. 7-16; C.A., **125**, 48128z (1996)(Rev. 110 refs).
7. Cordell G.A., Farnsworth N.R. (1977). Lloydia.— Vol. **40**(1). — P. 1-44.
8. Уланцева Г.Г., Назырова Г.Л., Миронова П.И., Федорова И.Л., Войцеховская А.Л., Ваганов В.П., Барер Г.М., Попова М.В., Гусев В.В., Вичканова С.А. (1994). Russ, RU 2,012,329, 15.05.94; Appl. 4,948,754, 25.06.91; Бюл. Изобрет., 1994, No 9.
9. Cheng Th. (1988). US 4,767,626, 30.08.88; US Appl. 710,628, 11.03.85; C.A., **111**(14), P120873u (1989).
10. Шеремет З.А., Волосевич Л.И. (1989). Антибиотики и Химиотерапия.— Т. **34**(4). — С. 263-266.
11. Southard G.L., Hardrader R.J. (1989). Eur. Pat. Appl. EP 297,535, 04.01.89; US Appl. 68,251, 30.06.87; C.A., **111**(16), P140510b (1989).
12. Southard G.L. (1987). U.S. US 4,683,133, 28.07.87; Appl. 767,606, 20.08.85; C.A., **108**, 26973f (1988).
13. Richard L., Tipton A.J. (1992). PCT Int. Appl. WO 92 19,242, 12.11.92; US Appl. 696,093, 06.05.91; C.A., **118**, 109712q (1993).
14. Sakamoto S., Sakamoto M. (1988). U.S. US 4,735,945, 05.04.88; Appl. 839,229, 13.03.86; C.A., **109**, 183561v (1988).

15. Babich H., Zuckerbraun H.L., Barber I.B., Babich S.B., Borenfreund E. (1996). Pharmacol. Toxicol. (Copenhagen).— Vol. **78**(6). - P. 397-403.
16. Захаров В.П., Либизов Н.И., Асланов Х.А. (1980). Лекарственные вещества из растений и способы их производства, Изд. Фан, Ташкент.— С. 136-138.
17. Ласская О.Е., Толкачев О.Н., Маслова Г.А. (1991). Способ получения сангвиритрина. Пат. России 571268, 01.07.91, приорит. 29.08.75, Бюлл. изобрет. No 33, 1977.
18. J.Dostal, E.Taborska, J.Slavik, M.Potacek, E.de Hoffmann. (1995). J. Natural Products.— Vol. **58**(5). – P. 723-729.
19. J.Dostal, H.Bochorakova, E.Taborska, J.Slavik, M.Potacek, M.Budesinsky, E.de Hoffmann. (1996). J. Natural Products. - **59**(6). - 599-602.
20. Толкачев О.Н., Савина А.А., Шейченко В.И., Проскудина В.В. (1999). Химико-фармацевтический журнал.— Т. 33(6). – С. 36-39.
21. Толкачев О.Н., Савина А.А., Шейченко В.И., Проскудина В.В. (1997). Второй Международный симпозиум “Новые и нетрадиционные растения и перспективы их практического использования”, 16-20 июня 1997, Пущино, Материалы симпозиума, секц. 4. - С. 948-950.
22. Ласская О.Е., Толкачев О.Н. (1978). Химия природных соединений. - No 6. - 764-767.
23. Àèèîââ Ì., Èñðàèèâ È.À., Þíóñîâ Ì.Ñ., Þíóñîâ Ñ.Ð. (1981). Õèèÿ ðèððáíûð ñâàèíáèè. — ¹ 5, Ñ. 671-672.

Tolkachev O.N, Savina A.A.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

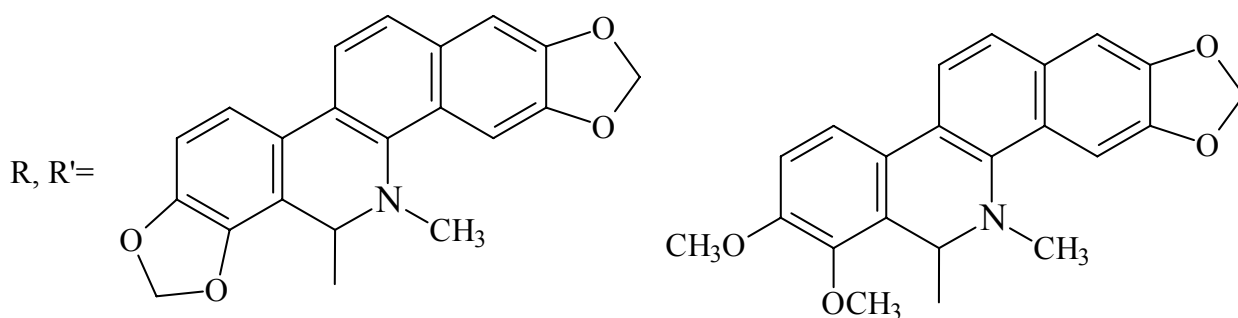
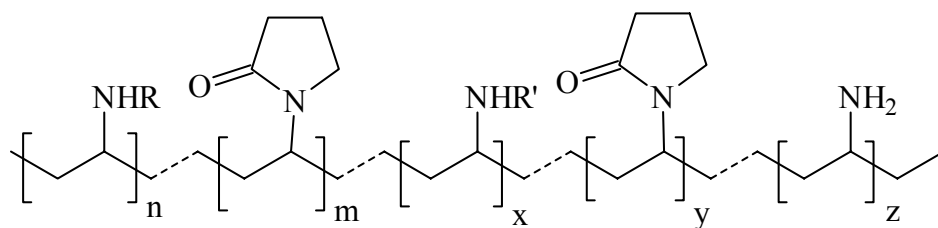
ABOUT THE STRUCTURE OF DEEP COLOURED PIGMENTS FROM *MACLEAYA MICROCARPA*

Deep colored pigments are isolated from *Macleaya microcarpa* during technological work out. The structures of the compounds are shown to belong to dimeric benzo[c]phenanthridine group alkaloids containing dihydrosanguinarine and dihydrochelerithrine moieties, associated with 7,8-O,O-demethylenedioxy-sanguinarine by covalent bond. Their properties and the chemical transformations confirming the structures are presented. Computer models of black dimeric associates are constructed.

**ИММОБИЛИЗАЦИЯ САНГВИРИТРИНА НА ВИНЛАМИН-
ВИНИЛПИРРОЛИДОНОВОМ СОПОЛИМЕРЕ**

Иммобилизация биологически активных молекул на полимерах являются эффективным методом модификации биологической активности лекарственных препаратов и повышения их биодоступности [1]. В качестве «прививочных» полимеров широко используются природные и синтетические полимеры. В частности, виниламин-винилпирролидоновые и другие сополимеры, содержащие различные функциональные группы, были успешно использованы для пролонгации перспективных лекарственных препаратов, снижения побочных эффектов и повышения их водорастворимости [2]. Во ВНИИ лекарственных и ароматических растений ведутся систематические исследования по разработке эффективных лекарственных антимикробных и противовирусных препаратов из растений. К ним относится разработанный в институте антимикробный препарат широкого спектра действия сангвиритрин, представляющий собой смесь бисульфатов сангвинарина и хелеритрина, который получают из маклейи мелкоплодной и маклейи сердцевидной [3].

Отработаны условия иммобилизации сангвиритрина на виниламин-винилпирролидоновом сополимере, получено водорастворимое соединение, в котором алкалоиды связаны с полимером азот-углеродной связью по электрофильному центру алкалоидов, молекулярная масса которого находится около 89000 Da. Содержание в ассоциате сангвиритрина равно 2,5% (при спектрофотометрическом методе определения). При большей степени замещения препарат теряет гидрофильность из-за экранирования полярным аминогрупп для ассоциации молекулами воды и становится водонерастворимым. Компьютерное моделирование (расчет минимальной потенциальной энергии методом молекулярной механики по программе ММ2 и молекулярной динамики) показало, что полимер имеет предпочтительную глобулярную конформацию, причем фрагменты алкалоидов сангвинарина и хелеритрина располагаются на поверхности полимера. Однако из-за отсутствия регулярности в структуре такого полимера, расчеты являются весьма приближенными.



ЛИТЕРАТУРА

1. Плате Н.А., Васильев А.Е. (1986). Физиологически активные полимеры. «Химия», Москва. — 294 сс.
2. Назарова О.В., Домнина Н.С., Комарова Е.А., Плеханова Л.Г., Банников Г.Ф., Ершов В.В. (1993). Полимерные биоантиоксиданты на основе пространственно-затрудненных фенолов // IV конференция «Биоантиоксидант», Тезисы докладов. Том I, 2-4 июня 1992 г., Москва. – С. 209.
3. Вичканова С.А., Толкачев О.Н., Мартынова Р.Г., Арзамасцев Е.В. (1982). Сангвиритрин – новый лекарственный растительный препарат антимикробного действия // Химико-фармацевтический журнал. – Т. 16(12). – С. 107-112.

NAZAROVA O.V., TOLKACHEV O.N.

Institute of High-molecular Compounds RASc., Saint-Peterburg, Russia;

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

IMMOBILIZATION OF SANGUITRIN ON VINYLAMINE-VINYLPYRROLIDONE COPOLYMER

There has been carried out immobilization of antimicrobial drug «Sanguiritrin» (the alkaloid mixture of sanguinarine and chelerythrine bisulfates) on vinylamine-vinylpyrrolidone copolymer to

produce the water soluble covalent bonded (C-N) associate with the molecular mass about 89000, while the maintenance of the title alkaloids is about 2,5%.

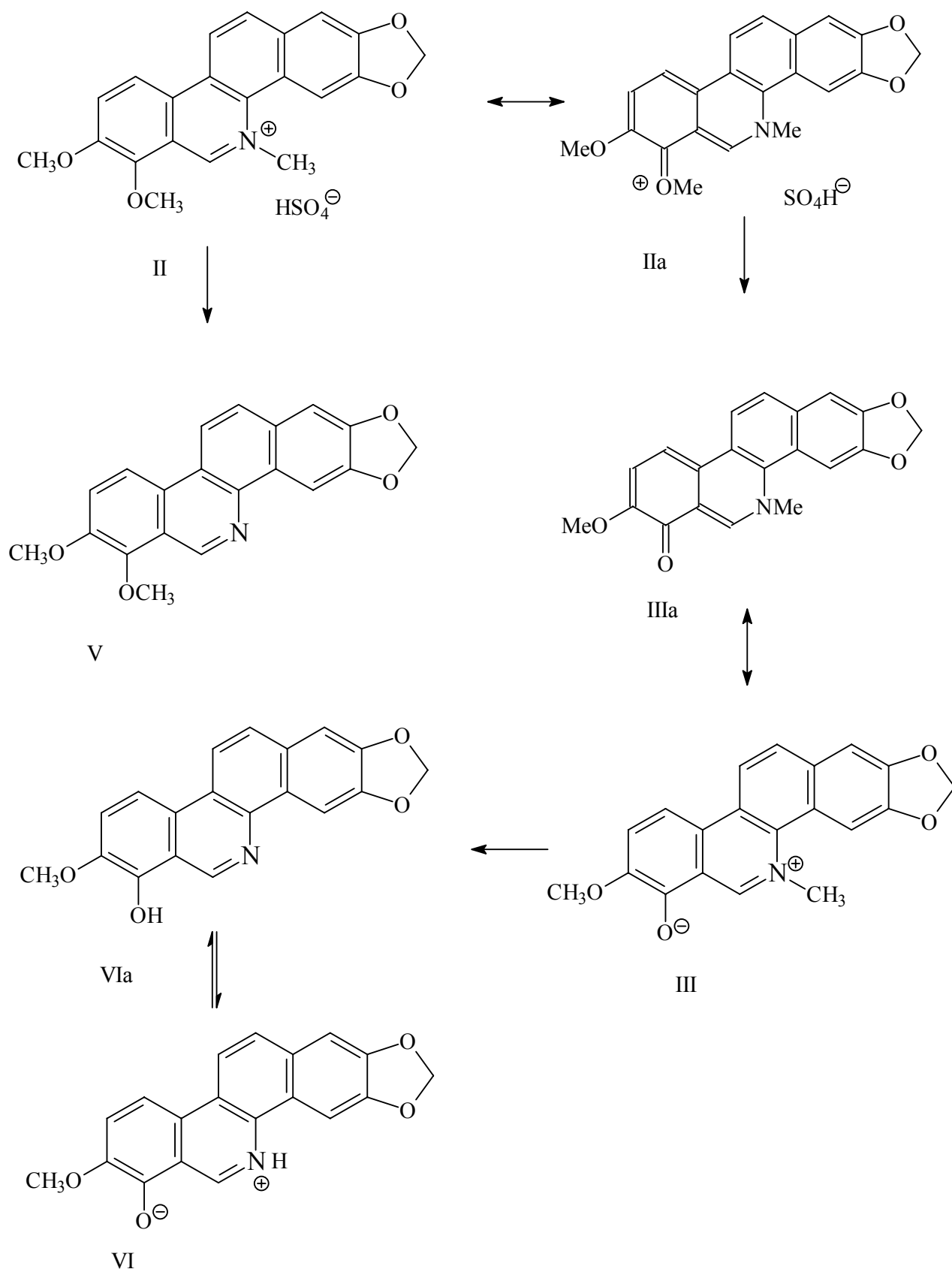
ТОЛКАЧЕВ О.Н., САВИНА А.А.

ВИЛАР, Москва, Россия

О РЕАКЦИИ ТЕРМОЛИЗА ХЕЛЕРИТРИНА БИСУЛЬФАТА: КОМПЬЮТЕРНАЯ МОДЕЛЬ

Ранее в процессе разработки технологии получения препарата сангвиритрина, представляющего собой смесь бисульфатов сангвинарина (I) и хелеритрина (II), нами был выделен из маклеи сердцевидной и маклеи мелкоплодной (*Macleaya cordata* и *Macleaya microcarpa*) фенольный четвертичный бензо[с]фенантридиновый алкалоид, идентичный фагаридину (III), для которого методом ЯМР установлено местоположение гидроксильной группы (C^8), таким образом, исправив принятую ранее для него структуру [1]. С другой стороны, изомерный фагаридину неприродный алкалоид изофагаридин (IV), содержащий гидроксильную группу в положении C^7 и отличающийся от III по спектрам и физико-химическим свойствам, получен нами термолизом бисульфата хелеритрина вместе с другими продуктами реакции [2]. Ранее рядом авторов было сообщено, что при термолизе хлорида хелеритрина был выделен лишь N-деметил-хелеритрин (V) [3-5]. Компьютерное моделирование (расчет минимальной потенциальной энергии методом молекулярной механики по программе MM2, ChemOffice 2000) ($\Sigma E = -266,9$ ккал/мол) показало, что гидросульфат анион располагается в молекуле алкалоида хелеритрина бисульфата гидрата (II) таким образом, что кислородный атом аниона, несущем отрицательный заряд, располагается над четвертичным атомом азота ($N^+ \dots O^- = 2,28E$), а протон гидроксония H_3O^+ отделен от неподеленной пары атома кислорода метоксила (C^7OCH_3) расстоянием $2,14E$, таким образом, способствуя реакции 7-О-деметилования. Расстояние $H_3O^+ \dots O^- \dots S$ равно $1,87$ и $1,92E$ соответственно. Таким образом, из молекулярной моделей хелеритрина бисульфата гидрата (II) видно, что атом кислорода O^7 является предпочтительным местом электрофильной атаки в реакции термолиза.

Ниже приведены схема превращений в реакции термолиза бисульфата хелеритрина и компьютерная модель бисульфата хелеритрина - гидрата (рис. 1). В процессе наблюдения за образцами препарата сангвиритрина при длительном хранении (несколько лет) нами было отмечено образование небольших количеств 7-О-деметилхелеритрина (IV) и других фенольных соединений, имеющих цвиттер-ионную структуру, окрашенных в индивидуальном состоянии и на хроматограммах в фиолетовый цвет.



ЛИТЕРАТУРА

1. Толкачев О.Н., Савина А.А., Шейченко В.И., Проскудина В.В. (1999). 8-О-Деметилхелеритрин из маклеи сердцевидной. Химико-фармацевтический журнал. – Т. 33(2). – С. 28-29.
2. Савина А.А., Толкачев О.Н., Шейченко В.И., Проскудина В.В. (1999). К механизму процесса термоллиза бензо[с]фенантридинового алкалоида хелеритрина. Химико-фармацевтический журнал. – Т. 33(6). – С. 36-39.
3. Haisova K., Slavik J., Dolejs L. (1973). Collect Czechosl. Chem. Commun. – Vol. 38(11). – P. 3312-3320.
4. Ishii H., Ishikawa T. Haginiwa J. (1977). Yakugaku Zasshi. – Vol. 97(8). – P. 890-900.
5. Bandoni A.L., Stermiz F.R., Rodnina R.V.D., Coussio J.D. (1977). Phytochem. – Vol. 14(8). – P. 1785-1788.

TOLKACHEV O.N., SAVINA A.A.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

ON THERMOLYSIS REACTION OF CHELERITHRINE BISULFATE:**COMPUTER MODEL**

The thermolysis reaction mechanism of chelerythrine bisulfate is discussed. Computer model of chelerithrine bisulfate hydrate is calculated confirming a preferable electrophilic attack on the O⁷ atom to produce 7O-demethyl-chelerythrine.

Цыбулько Н.С.

ВИЛАР, Москва, Россия

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЛКАЛОИДОВ БЕРБЕРИНА И
САНГВИНАРИНА В КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ МАКЛЕИ И ВАСИЛИСТНИКА.**

В современной медицине все чаще используются препараты, созданные на базе растительного сырья. Однако ряд факторов - сокращение ресурсов дикорастущих видов, трудности введения в полевые культуры - ограничивает внедрение многих лекарственных растительных препаратов. Альтернативным источником биологически активных веществ являются клеточные культуры лекарственных растений.

В количественном отношении биосинтез вторичных соединений клеточных культур чаще уступает уровню синтеза таковых в интактном растении. Однако в исключительных случаях для синтеза предпочтительней дедифференцированная клеточная куль-

тура - алкалоиды берберина культуры клеток *Thalictrum minus*, где содержание берберина превышает таковое в нативном растении примерно на два порядка [1] и сангвинарина культуры клеток *Papaver bracteatum*. Альтернативным источником получения сангвинарина является культура клеток *Macleaya cordata* [9].

Культура ткани *Thalictrum minus* содержит комплекс четвертичных протобербериновых алкалоидов: берберин, коптизин, пальматин, ятроноризин, колумбамин, талифендин, талидастин, дезокситалидастин, магнофларин [2-4]. Берберин является основным алкалоидом его содержание достигает 0,67% от массы сухих клеток, что значительно превышает таковое в интактном растении, содержание других алкалоидов - менее 0,1%.

Берберин не только накапливается в ткани, но и экскретируется в среду - культуральную жидкость. Причем, его содержание в культуральной жидкости в зависимости от фазы роста ткани составляет от 20% до 70%. В связи с этим, нам необходимо было разработать метод, позволяющий контролировать содержание берберина как в культуре тканей василистника, так и в культуральной жидкости.

Химический состав клеточной культуры маклеи и интактного растения различается как по качественным, так и по количественным характеристикам. Так в интактном растении преобладает сангвинарин и хелеритрин. Содержание дигидросангвинарина сравнительно невысоко. Культура клеток отличается повышенным содержанием дигидросангвинарина, дигидрохелерубина, сангвинарина и хелерубина в то время как хелеритрин накапливается в меньшем количестве. Хелерубин и его дигидропроизводные в интактном растении практически отсутствуют.

В связи с этим, все существующие методики определения целевых алкалоидов, разработанные в основном для интактных растений не отвечают требованиям массового анализа культуры клеток.

С целью проведения исчерпывающей экстракции алкалоидов из сырья предварительно высушенной при температуре не более 60⁰ клеточной культуры, были опробованы традиционные для интактных растений, содержащих аналогичный комплекс действующих веществ, экстрагенты: этиловый и метиловый спирты, хлороформ, диэтиловый эфир при предварительном подщелачивании среды, и с последующим упариванием экстракта до сухого остатка [5, 6, 10]. В ходе эксперимента установлено, что использование спиртов дает возможность провести исчерпывающую экстракцию при двух – трехкратном извлечении. Однако оптимальным вариантом экстракции для алкалоидов как маклеи так и василистника является настаивание с хлороформом при предварительном подщелачивании в соотношении сырье – экстрагент 1:20 в течение 12 часов.

Разделение полученных сумм алкалоидов проводилось на пластинках силуфол, алуфол, варьировались также различные варианты систем: хлороформ-метанол-аммиак, хлороформ-этанол-аммиак, диэтиловый эфир-петролейный эфир-метанол-диэтиламин, хлороформ-бензол-метанол-диэтиламин, бензол-хлороформ-метанол, бензол-этилацетат-диэтиламин, хлороформ-ацетон-диэтиламин, серный эфир-петролейный эфир-метанол-аммиак [5–8, 10].

Оптимальное разделение экстракта василистника было получено на пластинках силуфол с флуоресцентной добавкой в системе: хлороформ-метанол аммиак в соотношении компонентов (17 : 15 : 2,5). Из пяти основных зон, наблюдаемых на пластинках, более интенсивная с R_f 0,32 идентифицирована по стандартному образцу как берберин. Вторая, обладающая близкой хроматографической подвижностью с R_f 0,26, идентифицирована как пальматин.

Экстракт культуры ткани и культуральная жидкость имеют практически идентичный компонентный состав.

Достаточная для измерения оптической плотности концентрация берберина в исследуемом экстракте достигается при нанесении на пластинку не менее 0,2 мг сухого остатка.

Разделения экстракта маклеи также проводится на пластинках силуфол в системе серный эфир – петролейный эфир – метанол – аммиак в соотношении компонентов (15 : 15 : 3 : 2). На хроматограмме наблюдается более десяти окрашенных зон, при чем, две из них - наиболее выраженные - (R_f = 0,77 и 0,69) дигидросангвинарин и дигидрохелерубин проявляются только под воздействием света. Высокой интенсивностью отличаются также сангвинарин и хелерубин (R_f = 0,51 и 0,48), сангвирубин R_f = 0,35 и хелеритрин R_f = 0,61.

Достаточная для измерения оптической плотности концентрация сангвинарина в исследуемом экстракте достигается при нанесении на пластинку не менее 1 мг сухого остатка.

В последних экспериментах по оптимизации среды маклеи наблюдалось экскретирование сангвинарина и хелерубина в культуральную жидкость, однако проведение количественного определения показало что присутствие целевых алкалоидов в культуральной жидкости незначительно.

Для элюирования алкалоидов с пластинки были опробованы: 2% раствор серной кислоты, однонормальный раствор серной кислоты, метанол, смесь метанола и однонормальной серной кислоты. При использовании последнего реагента в сочетании компонентов 4:1 достигается оптимальное элюирование как для алкалоидов василистника так и для алкалоидов маклеи.

Объем элюатов при соответствующей концентрации нанесенного на пластинку вещества не должен превышать 5 - 10 мл.

На заключительной стадии используется спектрофотометрическое определение оптической плотности полученных элюатов.

Для спектрофотометрического определения алкалоидов берберина в качестве стандартного образца используется берберин-бисульфат. Берберин - стандарт, культуральная жидкость и экстракт культуры ткани имеют идентичные кривые поглощения с максимумами 264, 347, 427 нм. Для удобства определения были рассчитаны удельные коэффициенты поглощения $E_{1\text{см}}^{1\%}$ берберина-бисульфата при указанных длинах волн: 735, 646 и 145, соответственно, что позволяет рассчитать содержание действующего вещества в культуральной жидкости, экстракте культуры ткани и агаре без использования стандарта.

Измерение оптической плотности раствора берберина целесообразно проводить при 347 нм. Содержание берберина прямо пропорционально его оптической плотности в пределах концентраций от 0,01 мг в мл до 1 мг в мл.

Îðîíñèðàäåýüüàý ïøåáèà äàèèè÷íîî ïðàààäåáüè ñîðàäåýüàð 6,75 % . Ðàçîéüðàðð ïüðà ñ òèèñèðàäåýüüè àíààäèè àäðàäèèà-äèñîéüðàðà è èóéüðàäåýüüè æèèñèè ïàðàäæäðò ïðòòðòàèà ñèñòàìàðà÷íîî ïøåèè.

В связи с тем, что селекционные работы по культуре тканей требуют проведения большого количества анализов, а вклад побочных продуктов в оптическую плотность исследуемого образца в среднем не превышает 10%, что подтверждают спектры поглощения полученных методом препаративной хроматографии неидентифицированных веществ и компонентов питательной среды, нами были разработаны экспресс-методики определения содержания протобербериновых алкалоидов в культуральной жидкости, ткани и агаре без предварительного разделения. Учитывая так же высокую концентрацию алкалоидов в испытуемых образцах, определение оптической плотности раствора действующего вещества целесообразно проводить при длине волны 427 нм.

Кривая поглощения сангвинарина имеет два выраженных максимума 270 нм, 319 нм и инфлексию при 452 нм, целесообразно проводить определение его оптической плотности в максимуме поглощения при длине волны 319 нм, что повышает чувствительность методики до 0,1 мг в мл. Îøåáèà äàèèè÷íîî ïðàààäåáüè ñîðàäåýüàð 6,4%. Проведенные опыты с добавками сангвинарина к экстракту алкалоидов подтверждают отсутствие систематической ошибки.

Разработанная нами методика позволяет так же определять содержание в рабочем растворе хелерубина, так как рисунок спектра поглощения хелерубина идентичен спектру поглощения сангвинарина.

- N.S.CYBULKO.

**THE CHROMATOSPECTROPHOTOMETRIC METHOD IN
QUANTITATIVE DETERMINATION OF ALKALOIDS IN CELL CULTURE
OF *MACLEAYA* AND *THALICTRUM***

We have investigated the chromatofluorimetric method of sanguinarine determination in cell culture of *Macleaya* and berberine in cell culture of *Thalictrum*. When using optical density of sanguinarine at 319 nm, berberine – at 347 nm. Sensitivity of the method is to be up to 0,1 mg/ml for sanguinarine and 0,01 mg/ml for berberine.

ПИНЕЕВ С.А., СОКОЛЬСКАЯ Т.А., САВИНА А.А., ЕВСТРАТОВА Р.И.

ВИЛАР, Москва, Россия

ВЭЖХ В СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ФИТОПРЕПАРАТОВ.

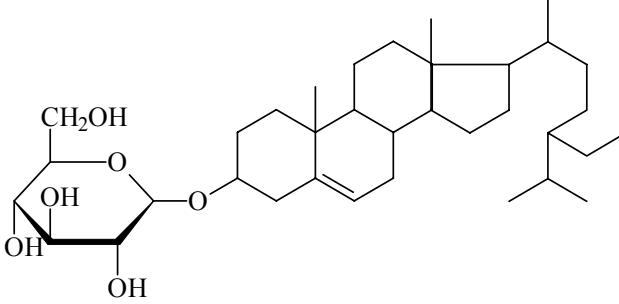
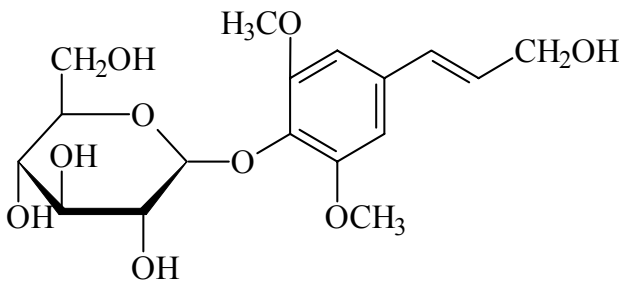
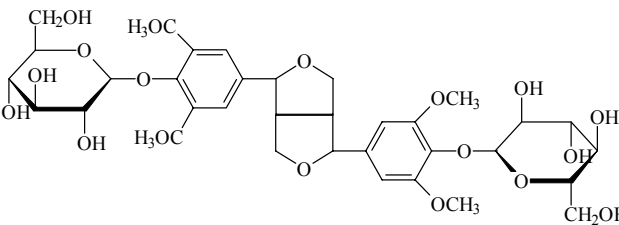
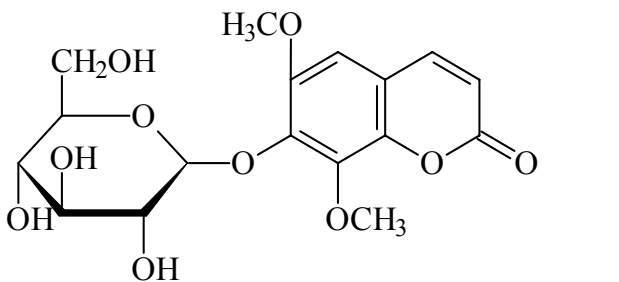
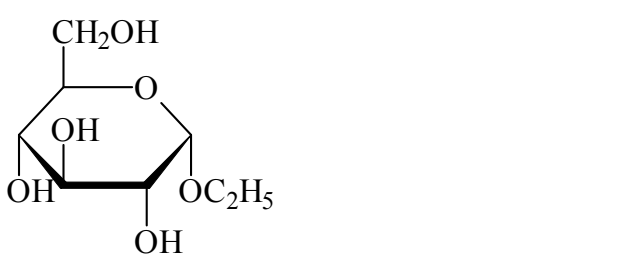
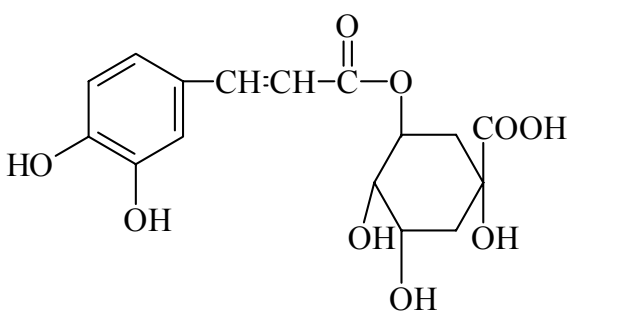
1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЭЛЕУТЕРОЗИДА В В СУХОМ ЭКСТРАКТЕ ЭЛЕУТЕРОКОККА МЕТОДОМ МИКРОКОЛОНОЧНОЙ ВЭЖХ.

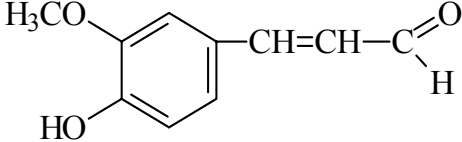
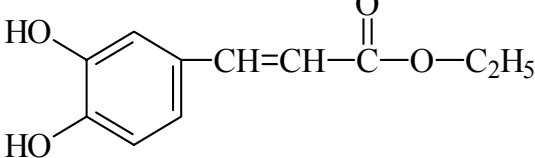
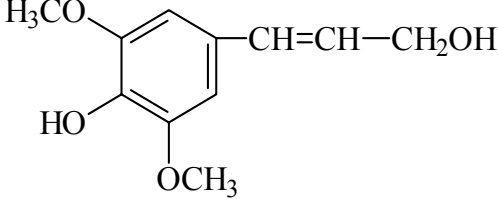
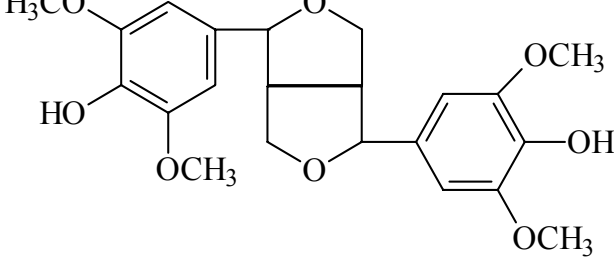
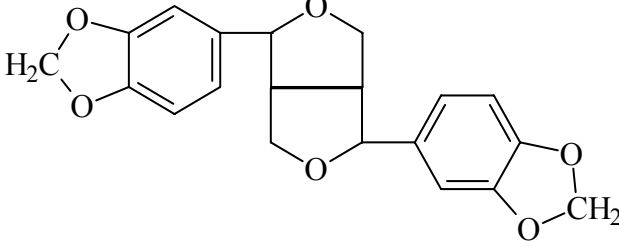
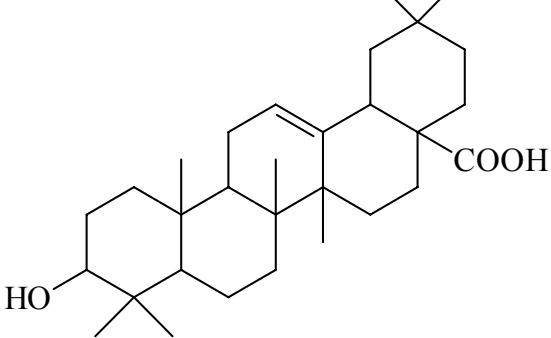
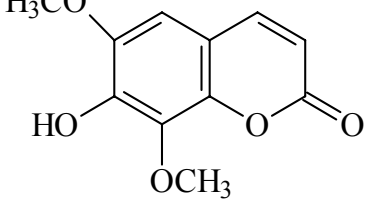
Одним из эффективных отечественных препаратов стимулирующего и адаптогенного действия является "экстракт элеутерококка сухой", получаемый из корней и корневищ элеутерококка колючего *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim., семейства аралиевых — *Araliaceae*. Препарат был создан в ВИЛАРе и введен в медицинскую практику в 1992 году.

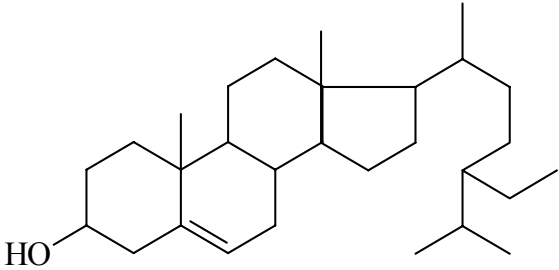
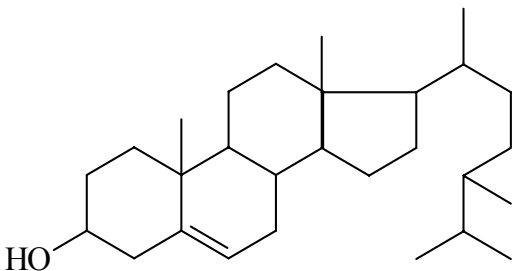
С химической точки зрения экстракт элеутерококка сухой представляет собой сумму веществ, относящихся к различным классам природных соединений. Значительная часть этих веществ представляет собой гликозиды, агликонами которых являются стероиды (даукостерин), фенилпропаноиды с замещенными фенольными группами (сирингин), лигнаны (элеутерозид D), оксикумарины (7-O-β-D-глюкозилизофраксидин), алканы (этил-α-D-галактозид или элеутерозид C).

Компонентами экстракта элеутерококка сухого являются также негликозилированные соединения различных классов: фенилпропаноиды со свободными фенольными гидроксильными группами (хлорогеновая кислота, кониферилловый альдегид, этиловый эфир кофейной кислоты, синаповый спирт), лигнаны (сирингарезинол, сезамин), тритерпеноиды (олеаноловая кислота), кумарин (изофраксидин), ситостерины (β-ситостерин, кампестерин), полисахариды и другие [1—4, 14].

Химический состав элеутерококка

	<p>Даукостерин $C_{35}H_{60}O_6$ М.м. 576,858 Т. пл. 305 °С</p>
	<p>Сирингин (элеутерозид В) $C_{17}H_{24}O_9$ М.м. 372,372 Т. пл. 192—194 °С</p>
	<p>Элеутерозид D (ди-β-D-глюкозид /-—сирингарезинола) $C_{34}H_{46}O_{18}$ М.м. 742,728 Т. пл. 252 °С</p>
	<p>7—β—глюкозид изофраксидина $C_{17}H_{20}O_{10}$ М.м. 384,340 Т. пл. 218 °С</p>
	<p>Элеутерозид С (этил-α-D-галактозид) $C_8H_{16}O_8$ М.м. 240,210 Т. пл. 140 °С</p>
	<p>Хлорогеновая кислота $C_{16}H_{18}O_9$ М.м. 354,314 Т. пл. 207—208 °С</p>

	<p>Кониферильный альдегид $C_{10}H_{10}O_3$ М.м. 178,188 Т. пл. 84 °С</p>
	<p>Этиловый эфир кофейной кислоты $C_{11}H_{12}O_4$ М.м. 208,214</p>
	<p>Синаповый спирт (агликон сирингина) $C_{11}H_{14}O_4$ М.м. 210,230 Т. пл. 63—65 °С</p>
	<p>Серингарезинол (агликон элеутерозида D) $C_{22}H_{26}O_8$ М.м. 418,444 Т. пл. 175—176 °С (рацемат из воды) 185—186 °С (+ форма)</p>
	<p>Сезамин $C_{20}H_{18}O_6$ М.м. 354,359 Т. пл. 123 °С</p>
	<p>Олеаноловая кислота $C_{30}H_{48}O_3$ М.м. 456,709 Т. пл. 309—312 °С</p>
	<p>Изофраксидин $C_{11}H_{10}O_4$ М.м. 206,198 Т. пл. 148—149 °С (иглы из воды)</p>

	β —ситостерин $C_{29}H_{50}O$ М.м. 414,715 Т. пл. 139—140 °С
	Кампестерин $C_{28}H_{48}O$ М.м. 400,688 Т. пл. 157—158 °С (из ацетона)

В литературе описаны спектрофотометрический [8-12] и флюорометрический [13] методы определения действующих веществ в корнях элеутерококка колючего, а также рассмотрены вопросы стандартизации экстрактов по элеутерозиду В [14] и элеутерозиду D (Е) [15] с применением метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Спектрофотометрические методы не позволяют оценить влияние примесей, способных к поглощению света в УФ-области или к люминесценции при возбуждении.

Основным действующим веществом экстракта элеутерококка колючего является элеутерозид В [1—7].

Вследствие определенных преимуществ была разработана методика количественного определения для отечественного микроколоночного хроматографа "Милихром" (ПО "Науч-прибор", г. Орел). Учитывая, что методика создавалась для хроматографов первого поколения, оснащенных в качестве регистратора только самописцем, мы ограничились определением одного элеутерозида В, исходя из сильного уширения пика элеутерозида D, что затрудняет использование метода расчетов по высоте пика.

При отработке методики анализа на хроматографе "Милихром" было показано экспериментальным путем, что на колонке 2*64 мм, Separon C18 (Lachema,), 5 мкм, в системе вода—ацетонитрил—уксусная кислота ледяная (85 : 15 : 0,5) происходит четкое разделение веществ, поглощающих в УФ-области, при этом на хроматограмме отсутствует перекрывание пика элеутерозида В с соседними пиками (Рис.1—2). Детектирование проводили при $\lambda=266$ нм, диапазон чувствительности 0,8. Для количественного определения предлагается брать раствор исследуемого экстракта, предварительно очищенный фильтрацией через окись алюминия II степени активности по Брокману, которая позволяет очистить раствор от фенольных компонентов и веществ, дающих на хроматограмме пики, перекрывающие пик эле-

утерозида В. Элюирование с колонки с окисью алюминия проводится смесью этиловый спирт—вода (3 : 2), позволяющей полностью смыть элеутерозид В.

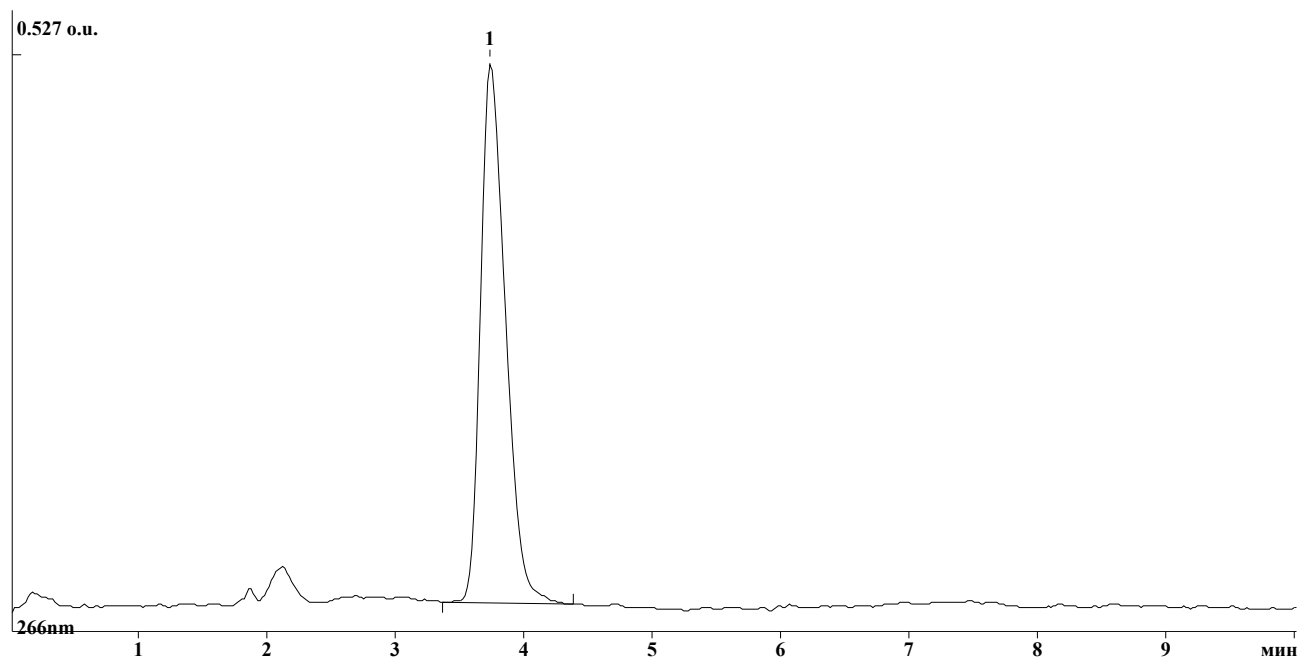


Рис.1. ВЭЖХ-хроматограмма раствора ГСО синьгина. Пик 1 - синьгин (элеутерозид В).

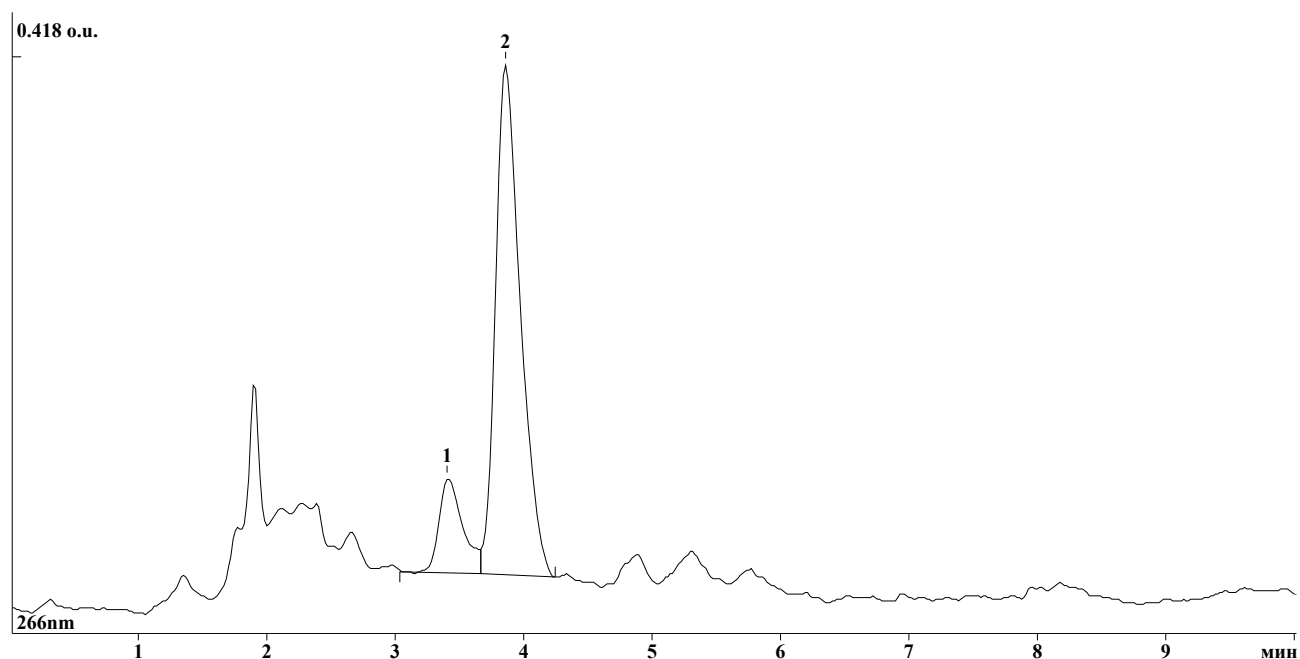


Рис.2. ВЭЖХ-хроматограмма извлечения экстракта элеутерококка сухого. Пик 2 — синьгин (элеутерозид В).

Метрологические характеристики разработанной методики количественного определения содержания элеутерозида В в экстракте элеутерококка сухом рассчитаны из результатов анализа одного образца препарата в 5 независимых повторностях (таблица 1).

n	f	\bar{x}	S^2	S	P, %	t (P, f)	Δx	$\varepsilon, \%$
6	5	0,53	0,00054	0,0231	95	2,57	0,059	11,05

Отсутствие систематической ошибки проверено в опытах с добавками (таблица 2).

Таблица 2

Содержание элеутерозида В в пробе экстракта, мг	Добавлено элеутерозида В - стандарта, мг	Рассчитанное содержание элеутерозида В, мг	Найдено элеутерозида В, мг	Отклонение
0,0812	0,2	0,1406	0,1605	-0,0199
0,0812	0,4	0,1604	0,1540	+0,0064
0,0812	0,6	0,1703	0,1777	-0,0074

Ниже приводится методика количественного определения элеутерозида В в препарате "экстракт элеутерококка сухой".

Количественное определение. Около 0,04 г препарата (точная навеска) растворяют в 0,5 мл воды и наносят на колонку с окисью алюминия II степени активности по Брокману ("Reanal", Hungary) или окисью алюминия нейтральной 40/250 ("Chemapol", Czechoslovakia).

Элеутерозиды элюируют с колонки 80 мл смеси растворителей этиловый спирт - вода (3:2), элюат упаривают досуха и растворяют в 5 мл 30 % этилового спирта (раствор Б).

4 мкл полученного раствора вводят в жидкостной хроматограф "Милихром" (ПО "Научприбор", Россия), хроматографируют на колонке КАХ-2 (2*64 мм, сталь) по ТУ 25-7405.003-86, "Separon" C18, "Tessek", ЧСФР, 5 мкм, эффективностью не менее 4500 т.т. Проводят УФ-детектирование при $\lambda = 266$ нм, диапазон чувствительности 0,8. Элюент вода-ацетонитрил—уксусная кислота (85:15:0,5). Скорость потока 100 мкл/мин. Скорость движения бумажной ленты 180 мм/ч. Параллельно проводят опыт с ГСО синингина (элеутерозида В); 2 мкл раствора А ГСО синингина (элеутерозида В) хроматографируют как описано выше. Проводят пять определений высоты пика ГСО синингина (элеутерозида В), и рассчитывают среднюю высоту пика по пяти определениям.

Определяют время выхода и идентифицируют пик элеутерозида В на хроматограмме анализируемого экстракта. Измеряют высоты пиков элеутерозида В на хроматограммах стандарта и экстракта.

Содержание элеутерозида В в экстракте элеутерококка сухого в процентах определяется по формуле:

$$X = \frac{0,95 * m_{st} * h_B * V_{st} * 5 * 100 * 100}{m * h_{st} * V * 50 * (100 - W)} = \frac{m_{st} * h_B * V_{st} * 950}{m * h_{st} * V * (100 - W)},$$

где h_B - высота пика элеутерозида В в миллиметрах;

h_{st} - высота пика ГСО сиринагина (элеутерозида В) в миллиметрах;

m - навеска экстракта элеутерококка сухого в граммах;

V_{st} - объем пробы раствора ГСО сиринагина (элеутерозида В), вводимой в хроматограф, в микролитрах;

V - объем пробы экстракта элеутерококка, вводимой в хроматограф, в микролитрах;

m_{st} - навеска ГСО сиринагина (элеутерозида В) в граммах;

W - потеря в массе при высушивании в процентах;

0,95 - коэффициент пересчета массы кристаллогидрата ГСО сиринагина (элеутерозида В) на безводное вещество.

Примечания. 1. Приготовление раствора ГСО сиринагина (элеутерозида В). Около 0,01 г (точная навеска) ГСО сиринагина (элеутерозида В) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 40 мл 30 % этилового спирта, перемешивают до растворения, доводят объем раствора до метки и снова перемешивают (раствор А).

Срок годности раствора А - 30 дней при температуре 5-10 °С.

2. Приготовление колонки. 10,0 г окиси алюминия II степени активности по Брокману ("Reanal", Hungary) или окиси алюминия L 40/250 нейтральной ("Chemapol", Czechoslovakia, pH 10 % водного раствора 9-10, растворимых в воде веществ не более 0,5 %) помещают в стеклянную колонку длиной около 25 см, диаметром 16 мм, в нижней части которой помещают небольшой ватный тампон. Сверху на сорбент помещают небольшой ватный тампон.

3. Для приготовления элюента используется ацетонитрил ТУ 6-09-3534-87, очищенный для ВЭЖХ, или квалификации "для ВЭЖХ".

Описанная методика включена в ФС 42-2090-92 на "экстракт элеутерококка сухой".

ЛИТЕРАТУРА

1. Оводов Ю.С. и др. Изв. АН СССР, сер. хим., 1965, № 11, С. 2065.
2. Оводов Ю.С. и др. Химия природных соединений, 1965, № 1, С. 3.
3. Оводов Ю.С. и др. Химия природных соединений, 1967, № 1, С.63.
4. Оводов Ю.С. и др. Изв. АН СССР, сер. хим., 1969, № 6, С. 1370
5. Фролова Г.М., Оводов Ю.С., Супрунов Н.У. Химия природных соединений, 1971, № 4, С.614.
6. Фролова Г.М., Оводов Ю.С. Химия природных соединений, 1971, № 4, С.618
7. Лапчик В.Ф., Вестн. Киев. ун-та. Сер. биол., 1968, № 10, С.116.
8. Лапчик В.Ф., Оводов Ю.С. Вестн. Киев. ун-та, сер. биол., 1969, № 11, С.105.
9. Лапчик В.Ф., Растительные ресурсы, 1969, Т.5, Вып. 3, С.455.
10. Лапчик В.Ф., Растительные ресурсы, 1970, Т.6, Вып.2, С.228
11. Лапчик В.Ф., Материалы IV съезда Укр. ботан. товарищества, Киев, 1969, С.177

12. Лапчик В.Ф., Особенности накопления гликозидов элеутерококка колючего. Дисс. канд. биол. наук., Киев, 1970.
13. Ger. Offen. D.E., 1982, 3, p. 126, 353 (Cl. Go1N33/15) 12 aug.
14. Wagner H., Reur I.A., Obermeir A., Tittel G., Blatt S., *Planta medica*, 1982, 44, p.193
15. Vanhaelen M., Vanhaen-Hastre R., *J. Chromatography*, 1981, 312, p.497

PINEJEV S.A., SAVINA A.A., SOKOL'SKAYA T.A., EVSTRATOVA R.I.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

HPLC IN STANDARTIZATION MEDICINAL PLANTS AND FITO. 1. QUANTITATIVE AND QULITI ANALYSIS ELEUTHEROSIDES B IN DRY EXTRACTUM ELEUTHEROCOCCUS OF METHODS MICROCOLUMN HPLC.

In this paper report of methods quantitative and quality analysis of eleutherosides B in dry extractum eleutherococcus of methods microcolumn HPLC in chromatograph "Milichrom".

ПИНЕЕВ С.А., СОКОЛЬСКАЯ Т.А., САВИНА А.А, ЕВСТРАТОВА Р.И.

ВИЛАР, Москва, Россия

ВЭЖХ В СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ФИТОПРЕПАРАТОВ. 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЭЛЕУТЕРОЗИДА В В ТАБЛЕТКАХ ЭКСТРАКТА ЭЛЕУТЕРОКОККА СУХОГО 0,1 Г МЕТОДОМ МИКРОКОЛОНОЧНОЙ ВЭЖХ.

Одним из эффективных отечественных препаратов стимулирующего и адаптогенного действия является "экстракт элеутерококка сухой", получаемый из корней и корневищ элеутерококка колючего *Eleutherococcus senticosus (Rupr. et Maxim.) Maxim.*, семейства аралиевых — *Araliaceae*. Данный препарат был создан в ВИЛАРе и введен в медицинскую практику в 1992 году, выпускается в виде таблеток сухого экстракта элеутерококка сухого 0,1 г, покрытых оболочкой.

Таблетки содержат экстракта элеутерококка сухого 0,1 г; вспомогательные вещества (сахар молочный, крахмал кукурузный, аэросил А-380, магний стеариновокислый), вспомогательные вещества для формирования оболочки (метилцеллюлоза (марка 16), титана диоксид, азорубин (кислотный красный 2 С). Таблетки-ядра экстракта элеутерококка сухого покрывают желудочнорастворимой пленкой, поскольку по данным фармакологических исследований всасывание действующих веществ начинается в желудке.

Методом микроколоночной ВЭЖХ проводится определение подлинности по наличию на хроматограмме пика элеутерозидов В, а также количественное определение.

Метрологические характеристики разработанной методики количественного определения содержания элеутерозида В в таблетках экстракта элеутерококка сухом рассчитаны из результатов анализа одного образца таблеток в 5 независимых повторностях (таблица 1).

Таблица 1

n	f	\bar{x}	S^2	S	P, %	t (P, f)	Δx	$\varepsilon, \%$
6	5	0,63	0,002025	0,045	95	2,78	0,1251	19,85

Ниже приводится методика количественного определения элеутерозида В в препарате "таблетки экстракта элеутерококка сухого 0,1 г, покрытые оболочкой".

Количественное определение. 2 таблетки экстракта элеутерококка сухого помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 45 мл смеси этиловый спирт—вода (3:2), перемешивают до растворения, доводят объём раствора смесью этиловый спирт—вода (3:2) до метки и перемешивают (раствор А).

10 мл раствора А наносят на колонку с окисью алюминия II степени активности по Брокману ("Reanal", Hungary) или окисью алюминия нейтральной 40/250 ("Chemapol", Czechoslovakia).

Элеутерозиды элюируют с колонки 80 мл смеси растворителей этиловый спирт - вода (3:2), упаривают элюат досуха и растворяют в 5 мл 30 % этилового спирта (раствор Б).

4 мкл полученного раствора вводят в жидкостной хроматограф "Милихром" (ПО "Научприбор", Россия), хроматографируют на колонке КАХ-2 (2*64 мм, сталь) по ТУ 25-7405.003-86, "Separon" C18, "Tessek", ЧСФР, 5 мкм, эффективностью не менее 4500 т.т. Проводят УФ-детектирование при $\lambda = 266$ нм, диапазон чувствительности 0,8. Подвижная фаза: вода—ацетонитрил—уксусная кислота (85:15:0,5). Скорость потока 100 мкл/мин. Скорость движения бумажной ленты 180 мм/ч. Проводят не менее 2-х параллельных опытов.

Параллельно проводят опыт с ГСО сиригина (элеутерозида В); 2 мкл раствора А ГСО сиригина (элеутерозида В) хроматографируют как описано выше. Проводят пять определений высоты пика ГСО сиригина (элеутерозида В), и рассчитывают среднюю высоту пика по пяти определениям.

Определяют время выхода и идентифицируют его пик на хроматограмме анализируемого извлечения из таблеток. Измеряют высоты пиков элеутерозида В на хроматограммах и рассчитывают среднюю высоту по 2 параллельным опытам.

Содержание элеутерозида В в таблетке экстракта элеутерококка сухого (X) определяют по формуле:

$$X = \frac{0,95 * m_{st} * h_B * V_{st} * 5 * 50}{50 * 2 * h_{st} * V * 10} = \frac{m_{st} * h_B * V_{st}}{4 * h_{st} * V},$$

где h_B - высота пика элеутерозида В на хроматограмме анализируемого образца таблеток, в миллиметрах;

h_{st} - высота пика ГСО синингина (элеутерозида В) в миллиметрах;

V_{st} - объём пробы раствора ГСО синингина (элеутерозида В), вводимой в хроматограф, в микролитрах;

V - объём пробы экстракта элеутерококка, вводимой в хроматограф, в микролитрах;

m_{st} - навеска ГСО синингина (элеутерозида В) в граммах;

W - потеря в массе при высушивании в процентах;

X - содержание элеутерозида В в таблетке в миллиграммах;

0,95 - коэффициент пересчёта массы кристаллогидрата ГСО синингина (элеутерозида В) на безводное вещество.

Содержание элеутерозида В в таблетке должно быть не менее 0,3 мг.

Примечания. 1. Приготовление раствора ГСО синингина (элеутерозида В). Около 0,01 г (точная навеска) ГСО синингина (элеутерозида В) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 40 мл 30 % этилового спирта, перемешивают до растворения, доводят объём раствора до метки и снова перемешивают (раствор А).

Срок годности раствора А - 30 дней при температуре 5-10 °С.

2. Приготовление колонки. 10,0 г окиси алюминия II степени активности по Брокману ("Reanal", Hungary) или окиси алюминия L 40/250 нейтральной ("Chemapol", Czechoslovakia, pH 10 % водного раствора 9-10, растворимых в воде веществ не более 0,5 %) помещают в стеклянную колонку длиной около 25 см, диаметром 16 мм, в нижней части которой помещают небольшой ватный тампон. Сверху на сорбент помещают небольшой ватный тампон.

3. Для приготовления элюента используется ацетонитрил ТУ 6-09-3534-87, очищенный для ВЭЖХ.

Описанная методика включена в ВФС 42-2085-92 на "таблетки экстракта элеутерококка сухого 0,1 г, покрытые оболочкой".

PINEJEV S.A., SAVINA A.A., SOKOL'SKAYA T.A., EVSTRATOVA R.I.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

HPLC IN STANDARTIZATION MEDICINAL PLANTS AND FITO. 1. QUANTITATIVE AND QULITI ANALYSIS ELEUTHEROSIDES B IN TABULETTE OF DRY EXTRACTUM ELEUTHEROCOCCUS OF METHODS MICROCOLUMN HPLC.

In this paper report of methods quantitative and quality analysis of eleutherosides B in tabulette dry extractum eleutherococcus of methods microcolumn HPLC in chromatograph "Milichrom".

ПИНЕЕВ С.А.

ВИЛАР, Москва, Россия

ВЭЖХ В СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ФИТОПРЕПАРАТОВ.

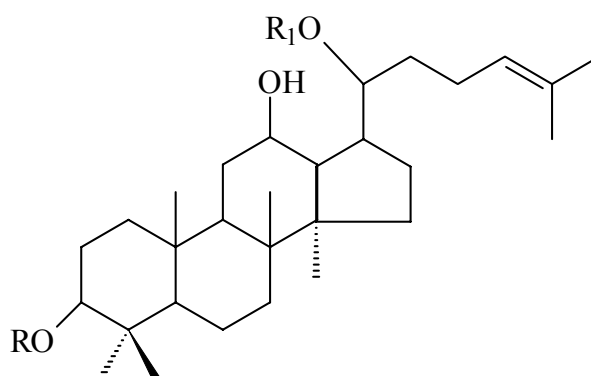
3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ГИНЗЕНОЗИДА Rg₁ В СУХОМ ЭКСТРАКТЕ ЖЕНЬШЕНЯ МЕТОДОМ МИКРОКОЛОНОЧНОЙ ВЭЖХ.

Одним из наиболее популярных лекарственных средств индо-тибетской медицины является женьшень. Женьшень известен с очень древних времен в Китае, Корее и Японии. В Европу проник (через голландцев) в 1610 г.

До 1922 г. был известен только в народной медицине. В 1922 г. появились первые научные указания, что сахаристое вещество женьшеня регулирует обмен углеводов и является средством для лечения диабета. Д. А. Баландин сообщил в 1949 г., что женьшень является хорошим заменителем инсулина [1], что дало толчок к систематическому изучению химического состава женьшеня..

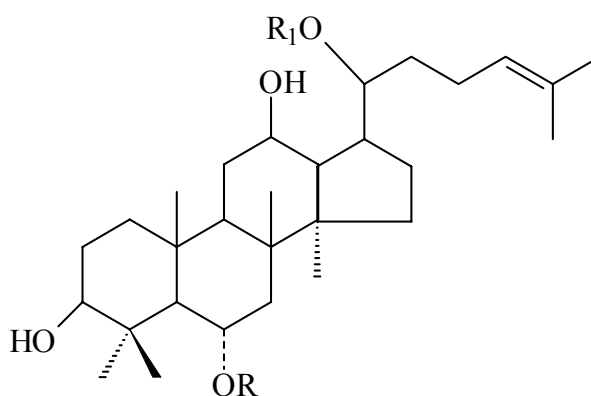
Одним из эффективных отечественных препаратов стимулирующего и адаптогенного действия является "экстракт женьшеня сухой", получаемый из корней культивируемого и дикорастущего, многолетнего травянистого растения - женьшеня - *Panax ginseng* C.A.Mey, сем. Аралиевых - *Araliaceae*. Препарат был создан в ВИЛАРе и введен в медицинскую практику в 1994 году.

Известно, что биологическая активность корня женьшеня и его препаратов определяется содержанием тритерпеновых гликозидов. Выделенные в России тритерпеновые гликозиды женьшеня получили название панаксозидов и были обозначены буквами А, В, С, D, Е, F, G [9]. Японские учёные выделили из корня женьшеня тритерпеновые гликозиды, названные ими гинзенозидами, причем к настоящему времени их известно около 25 [10]. Учитывая мировой опыт стандартизации препаратов на основе женьшеня, целесообразно придерживаться классификации тритерпеновых гликозидов женьшеня, ориентируясь на название гинзенозиды. Гинзенозиды представлены в основном восьмью гинзенозидами: Re, Rg₁, Rf, Rg₂, Rb₁, Rc, Rb₂, Rd. Гинзенозиды Rf и Rg₂ являются минорными гликозидами. Для стандартизации корня женьшеня и его препаратов [4-8] чаще всего определяют содержание остальных шести гликозидов - Re, Rg₁, Rb₁, Rc, Rb₂, Rd.



агликон — панаксадиол

Название гинзенозида	R	R ₁
Rb ₁	D-Glc-β(1→2)-D-Glc	D-Glc-β(1→6)-D-Glc
Rb ₂	D-Glc-β(1→2)-D-Glc	L-Ara(пираноза) (1→6)-D-Glc
Rc	D-Glc-β(1→2)-D-Glc	L-Ara (фураноза)(1→6)-D-Glc
Rd	D-Glc-β(1→2)-D-Glc	D-Glc



агликон — панаксатриол

Название гинзенозида	R	R ₁
Re	L-Rha (1→2)-D-Glc	D-Glc
Rf	D-Glc-β(1→2)-D-Glc	D-Glc
Rg ₁	D-Glc	D-Glc
Rg ₂	L-Rha (1→2)-D-Glc	H

Для анализа содержания гинзенозидов в настоящее время наиболее широко применяются методы ВЭЖХ [4-8]. Применяется разделение на прямофазных колонках [9], обращенно-фазных колонках [4,5,7], на колонках с аминофазой [8]. В качестве подвижных фаз ис-

пользуются подвижные фазы ацетонитрил-вода (18:82 для разделения гинзенозидов Re и Rg₁) [4], ацетонитрил-вода (30:70 для разделения гинзенозидов Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rf, Rg₂) [4], метанол-вода (44:56 для определения гинзенозида Rg₁) [5], гептан-хлороформ-ацетонитрил (15:3:2) [6], ацетонитрил-вода (4:1 или 43:7) [7], метанол-ацетонитрил-этантол-0,14 М ацетат аммония (150:350:25:53) [8].

Иногда разделение проводят с предварительным получением бензоильных производных гинзенозидов [6]. Детекция в основном спектрофотометрическая [4-7], но иногда применяется рефрактометрический детектор [8]. ВЭЖХ чаще всего производится после предварительной очистки на патронах Sep-Pak или на колонках Extrelut.

Известно, что в растении и сухом экстракте тритерпеновые гликозиды женьшеня чаще всего в виде комплексов со стеринами. Поэтому в основе методик количественного определения и способов выделения панаксозидов лежит предварительная обезжиривание петролейным эфиром, диэтиловым эфиром, гексаном, хлористым метиленом, бензолом, четыреххлористым углеродом. Необходимость этой операции связана с удалением стерина, с которыми большинство тритерпеновых гликозидов образуют нерастворимые в водных спиртах комплексные соединения [2,3].

В основу метода количественного определения положено метод основанный на предварительном обезжиривании экстракта женьшеня сухого и последующем определении методом микроколоночной ВЭЖХ на обращенно-фазном сорбенте. Проведенные исследования по подбору условий разделения панаксозидов женьшеня позволили остановиться на смеси спирт метиловый-вода в качестве подвижной фазы. Учитывая проблемы с получением стандартных образцов панаксозидов женьшеня, в настоящей методике предложено определять содержание только одного панаксозида Rg₁, достоверный образец которого поступил к нам из Китая.

Ниже приводится методика количественного определения гинзенозида Rg₁ в препарате "экстракт женьшеня сухой".

Количественное определение. Около 0,05 г (точная навеска) экстракта женьшеня сухого взвешивают в центрифужную пробирку из полимерного материала вместимостью 5 мл, приливают 5 мл гексана и перемешивают на микроцентрифуге - вортексе "MINIGEN" в течение 1 мин. Затем пробирку центрифугируют при 3000 об/мин в течение 5 мин. Осторожно, не затрагивая осадка, микропипеткой удаляют гексан. Экстракцию повторяют еще дважды, добавляя в пробирку по 3 мл гексана. Осадок высушивают в небольшом токе воздуха. Добавляют 2 мл 40 % спирта метилового и перемешивают на микроцентрифуге-вортексе "MINIGEN" в течение 2 мин. Затем пробирку центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 мин.

6 мкл надосадочной жидкости вводят в хроматограф типа Милихром, оснащенный стальной колонкой 2*80 мм с Separon SGX C18 S, 5 мкм. Подвижная фаза - смесь метиловый спирт - вода (50:50), скорость элюции 100 мкл/мин. Проводят УФ-детектирование при длине волны 204 нм. Продолжительность хроматографирования 20 мин.

Параллельно проводят опыт с РСО панаксозида Rg₁. 6 мкл раствора РСО панаксозида Rg₁ хроматографируют как описано выше. Определяют время выхода и идентифицируют пик панаксозида Rg₁ на хроматограмме анализируемого экстракта (Рис.1—2).

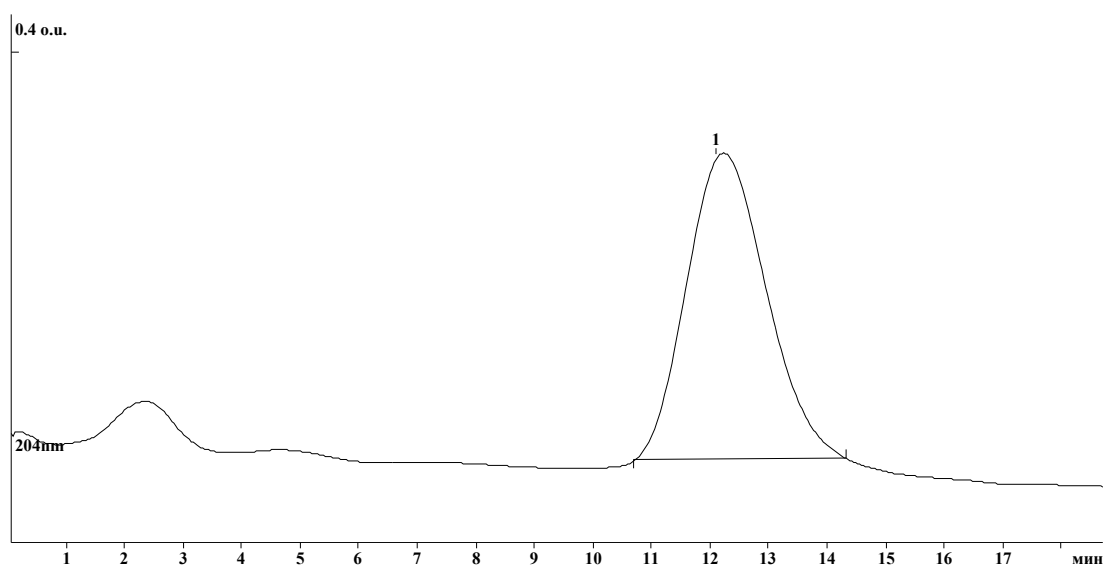


Рис. 1. Хроматограмма РСО гинзенозида Rg₁.

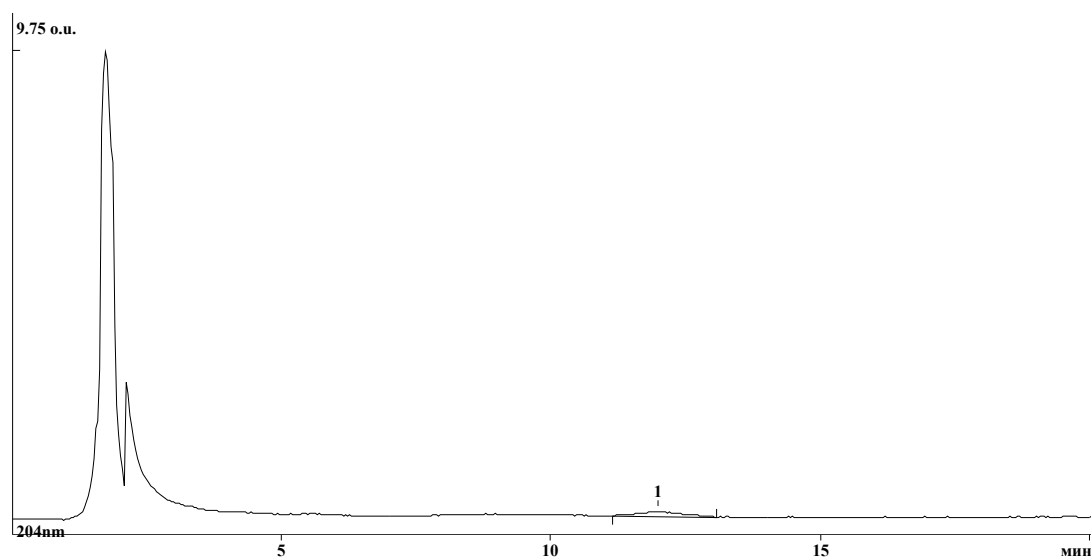


Рис. 2. Хроматограмма экстракта женьшеня сухого.

Хроматограф Милихром, колонка 2*80, Separon SGX RP-S C18, 7 мкм, подвижная фаза: спирт метиловый—вода (50 :50), длина волны детектирования 204 нм, скорость элюции 100 мкл/мин.

Пик 1 — гинзенозид Rg₁, время удерживания примерно 12 мин.

Содержание гинзенозида Rg₁ в препарате в пересчете на абсолютно сухое вещество в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{mst * S * 2 * 100 * 100}{m * Sst * 5 * (100 - W)} = \frac{mst * S * 4000}{m * Sst * (100 - W)},$$

где mst - масса РСО гинзенозида Rg₁ в граммах;

m - масса экстракта женьшеня сухого в граммах;

Sst - площадь пика РСО гинзенозида Rg₁ в мм² или мВ/мин;

S - площадь пика гинзенозида Rg₁ в мм² или мВ/мин;

W - потеря в массе при высушивании в процентах.

Описанная методика включена в ТУ 64-4-114-94 "Экстракт женьшеня сухой".

ЛИТЕРАТУРА

1. Баландин Д. А., Заменители инсулина при сахарном диабете, "Врачебное дело", 1949, № 6.
2. Зинкевич Э.П., Вечерко Л.П. Тритерпеновые гликозиды (сапонины). (Обзор). //Лекарственные растения. Труды ВИЛАР.Т.15. Химия. М. 1969. С. 650-654.
3. Деканосидзе Г.Е., Чирва В.Я., Сергиенко Т.В., Уварова Н.И. Исследование тритерпеновых гликозидов.(Установление строения и синтез). Тбилиси. Мецниереба. 1982. с.11.
4. Soldati F., Sticher O. HPLC Separation and Quantitative determination of Gensenosides from *Panax ginseng*, *Panax quinquefolium* and from *Ginseng* Drug Preparations.// Planta Medica.- 1980.-Vol.38.P.348 - 357.
5. Sticher O., Soldati F. HPLC Trennung und quantitative Bestmmung der Gensenoside von *Panax ginseng*, *Panax quinquefolium* und von Genseng - Spezialitaten. // Planta Medica.- 1979.- Vol.36.-P.30-42.
6. H.Besso, Y.Saruwatari, K.Futamura, K.Kunihiro, T.Fuwa, O.Tanaka. High-Performance Liquid Chromatographyc Determination of *Ginseng* Saponin by Ultraviolet Derivatisation. // Planta Medica.- 1979. -Vol.37, No.3. - P.226-233.

7. Bartolome R., Masoliver D., Soler M., Vilageliu. Determination of ginsenosides by high-resolution liquid chromatography (HPLC).// J.Alimentaria (Madrid).-1987.-Vol.24, No.183.- P. 73-76.
8. Zhou Z., Zhang G. Analysis of ginseng. IV. HPLC determination of ginsenosides in *Panax ginseng*.// Yaohue Xuebao.-1988.-Vol.23, No.2.- P. 137-141.
9. Еляков Г.Б. и др. Гликозиды из корней женьшеня (*Panax ginseng* C.A.Mey).- Изв.АН СССР, отд. хим. наук, 1962, 7, С.2054
10. Samukawa K., Yamashita H., Matsuda H., Kubo M. Siultaneous Analysis of Saponins in Ginseng Radix by High Performance Liquid Chromatography//Chem. Pharm. Bull.- 1995.- Vol.43, № 1.- P. 137 - 141.

PINEJEV S.A.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

**HPLC IN STANDARTIZATION MEDICINAL PLANTS AND PHYTODRUGS. 1.
QUANTITATIVE AND QULITI ANALYSIS GINSENOSED R_{g1} IN DRY EXTRACTUM
PANAX GINSENG OF METHODS
MICROCOLUMN HPLC.**

In this paper report of methods quantitative and quality analysis of ginsenosides R_{g1} in dry extractum *Panax ginseng* of methods microcolumn HPLC in chromatograph "Milichrom".

БУРОВА А. Е., ДМИТРИЕВ М. Ю., ОХОТНИКОВА В. Ф., СОКОЛЬСКАЯ Т.А.,
ПИНЕЕВ С.А.

ВИЛАР, Москва, Россия

МЕТОДЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ПРЕПАРАТА "ВИЛАРИН"

В ВНИИ лекарственных и ароматических растений разработана новая биологически активная добавка "Виларин", являющаяся биогенным стимулятором широкого спектра действия. Виларин повышает неспецифическую резистентность организма к физической и эмоциональной нагрузкам. Одновременно с этим БАД оказывает антимикробное, капилляропротекторное, противовоспалительное действие и что следует особо отметить, ранозаживляющее действие. Целью данной работы являлась разработка методов качественного и количественного определения действующих веществ в субстанции и таблетках для данной БАД "Виларин".

Все шесть компонентов сухого суммарного экстракта внесены в Государственную фармакопею, на их основе были созданы лекарственные средства, разрешенные к медицинскому применению. В состав виларина входят корневища с корнями левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides*, ФС 42-2707-90), корневища и корни элеутерококка колючего (*Eleuterococcus senticosus*, ФС 42-2725-90), трава эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea*,

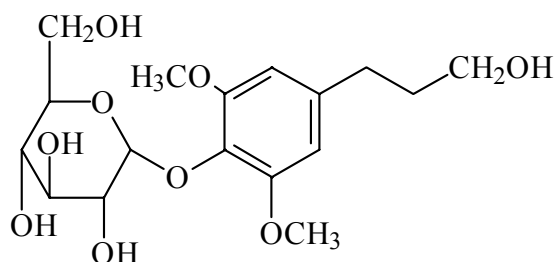
ВФС 42-2371-94), корни солодки (*Glycyrrhiza glabra*, ГФ X, ст. 573), листья толокнянки (*Arctostaphylos Uva ursi*, ГФ XI, вып. 2 ст. 26), плоды шиповника (*Rosa*, ГФ XI, вып. 2, ст. 38).

Качественные реакции.

Около 0,2 г (точная навеска) виларина помещали в колбу вместимостью 250 мл прибавляли 100 мл спирта этилового 30 %. Колбу с содержимым помещали на аппарат для встряхивания и взбалтывали в течение 15 мин. Полученное извлечение фильтровали через складчатый бумажный фильтр в колбу вместимостью 100 мл, отбрасывая первые 5 мл (раствор А). В коническую колбу вместимостью 100 мл помещали 10 мл раствора А, прибавляют 10 мл раствора натрия фосфорномолибденово-кислого, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на плитке с асбестовой сеткой в течение 20 мин; раствор приобретает сине-зеленую окраску, постепенно переходящую в синюю (фенольные гликозиды).

Определение наличия элеутерозида В.

В настоящее время стандартизация препаратов на основе соединений элеутерококка основана на определении наличия синрингина (элеутерозид В). Для определения наличия синрингина применяется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии на обращенно-фазных колонках. Наличие синрингина определяется по сравнению времен удерживания синрингина в исследуемом образце с раствором ГСО синрингина (элеутерозида В).



Синрингин (Элеутерозид В)
C₁₇H₂₄O₉ M.r. 372,00
Т.пл. 192-194 °С

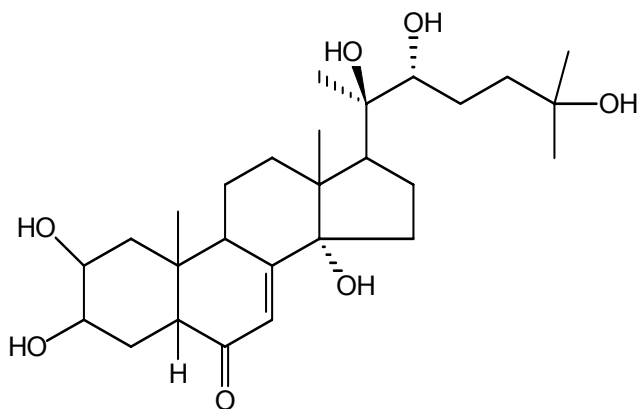
Около 0,2 г (точная навеска) Виларина, предварительно растертого в фарфоровой ступке, помещали в коническую колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 15 мл спирта этилового 30 % и перемешивают в течение 60 мин. В пробирку для микропроб однократного применения вместимостью 1,5 мл помещают 1 мл полученного раствора и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 мин (раствор В).

В инжектор жидкостного хроматографа Gilson с УФ-детектором и обращенно-фазной колонкой вводили 20 мкл раствора В и хроматографировали в следующих условиях: предколонка - Мини-картридж Элсикарт, 4x8 мм, Диасорб 130 C16T, 10 мкм. Колонка - Элсикарт 4x250 мм, сталь. Сорбент - Диасорб 130 C16T, 11 мкм. Эффективность колонки 10000 т.т., Фирма - производитель колонки - АОЗТ "ЭЛСИКО" (Москва, Россия). Аналитическая длина волны - 266 нм, скорость потока подвижной фазы составляла 0,8 мл/мин, режим подачи рас-

творителя - изократический. Подвижная фаза: ацетонитрил - 0,5 % уксусная кислота (14:86). Продолжительность хроматографирования - 40 мин. Параллельно в этих же условиях хроматографировали раствор ГСО сиринагина. На хроматограмме раствора В (рис. 1) должен присутствовать пик элеутерозида В (Элеутерококк), определяемый по совпадению времен удерживания (Время удерживания около 6 мин).

Определение наличия экдистерона.

Химический состав левзеи представлен соединениями, относящимися к различным классам - экдистероиды, органические кислоты, аскорбиновая кислота, каротиноиды, дубильные вещества, камеди, смолы, инулин. В настоящее время считается, что биологическое действие препаратов левзеи определяется наличием экдистероидов. Поэтому в качестве реперного вещества выбран экдистерон.



Экдистерон (витикостерон А, изоино-
костерон, коммистерон, 20-
оксиэкдизон, полиподин А, β-экдизон)

Поскольку в настоящее время стандарт экдистерона не выпускается, его наличие подтверждается временем удерживания, рассчитываемым относительно пика сиринагина. Соотношение времен удерживания определено в эксперименте на достоверном образце экдистерона.

На хроматограмме раствора В, снятой для определения наличия элеутерозида В, определяли наличие пика экдистерона, наличие которого говорит о присутствии левзеи, определяемое по соотношению времен удерживания с пиком элеутерозида В, которое составляет 4,66, принимая время удерживания элеутерозида В равное 1 (время удерживания около 29 мин).

Значительным преимуществом данной методики является возможность одновременного определения сиринагина и экдистерона из одной хроматограммы. Данные условия разделения могут быть использованы и для количественного определения сиринагина и экдистерона в препарате.

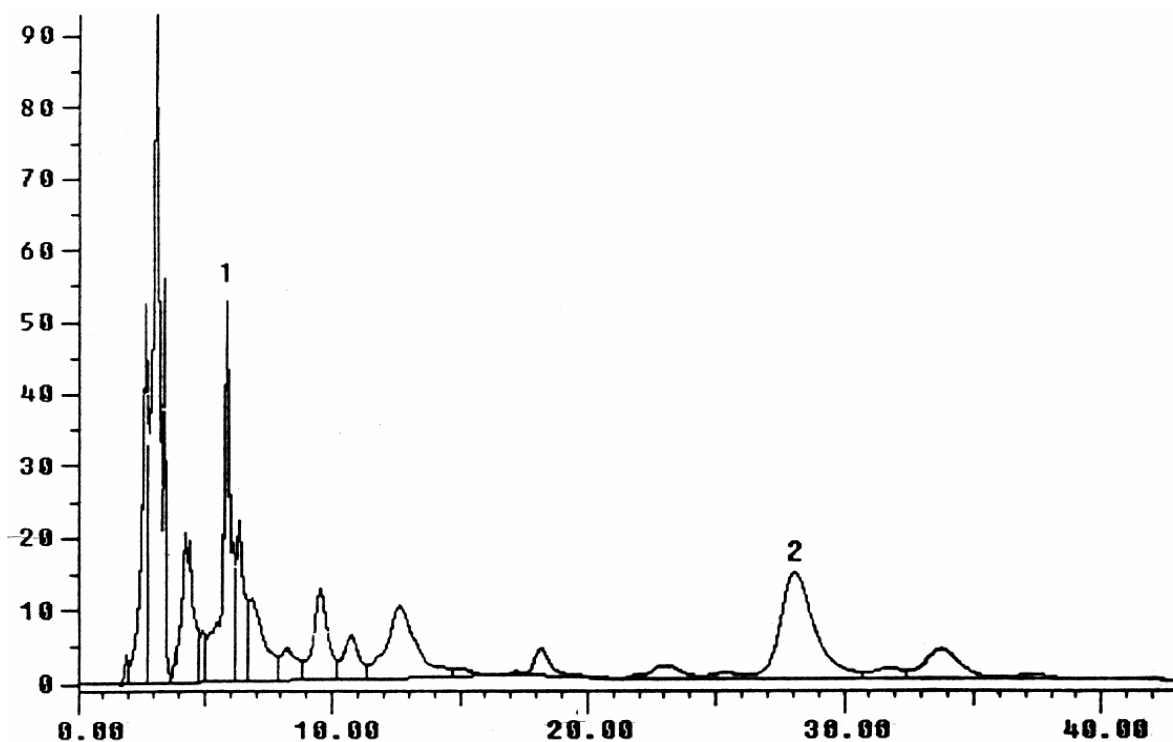


Рис. 1. ВЭЖХ-хроматограмма раствора В субстанции Виларина: пик 1 - элеутерозид В, пик 2 - эктистерон.

Тонкослойная хроматография.

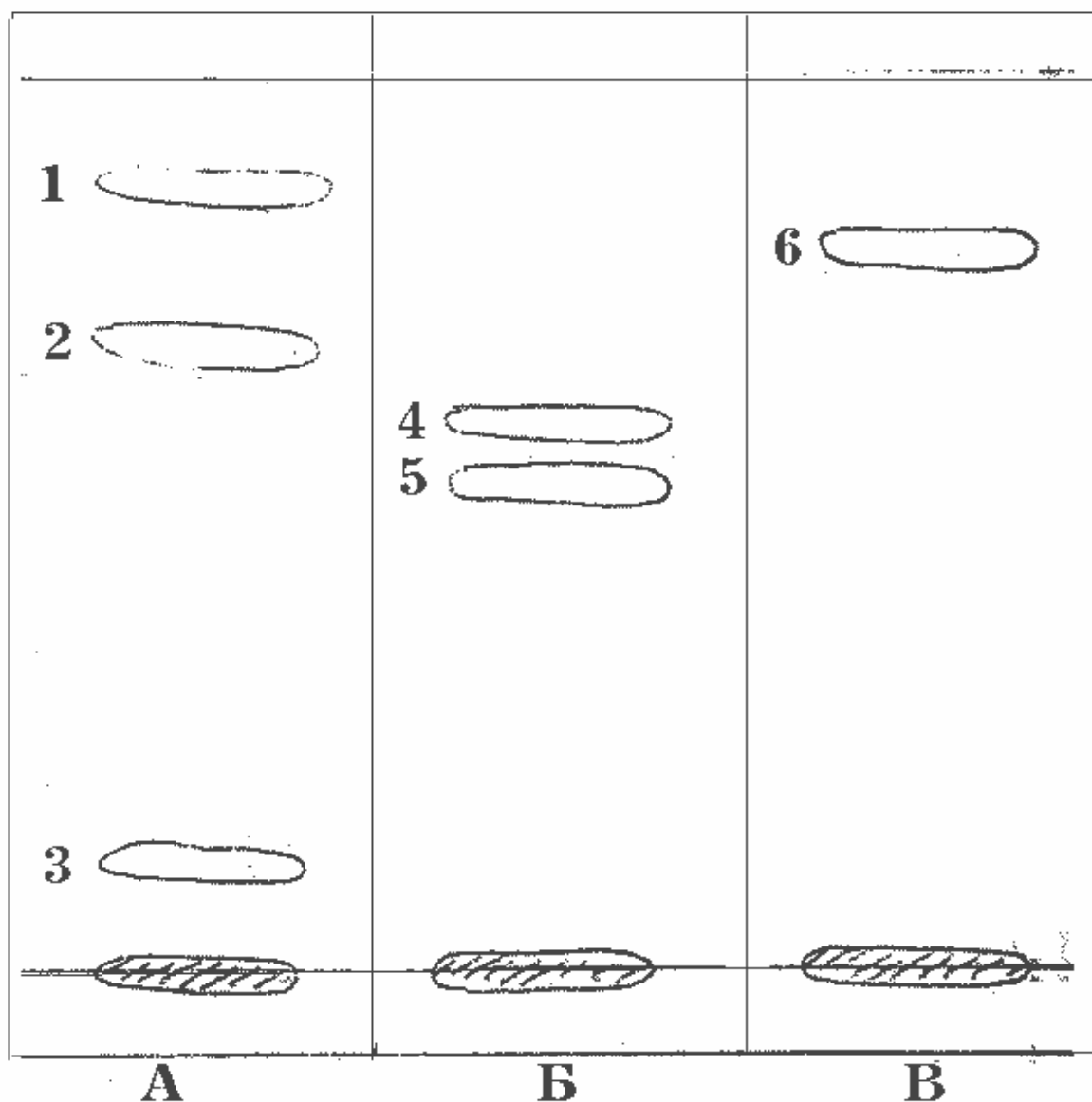
В коническую колбу вместимостью 50 мл помещали 0,5 г Виларина, прибавляли 10 мл спирта этилового 30 % и тщательно перемешивали с помощью стеклянной палочки в течение 20 мин. Полученный раствор фильтровали через складчатый бумажный фильтр.

На стартовую линию хроматографической пластинки "Сорбфил ПТСХ-П-А" размером 10x15 см наносили по 0,03 мл профильтрованного извлечения в виде двух полос длиной по 3 см. Пластинку сушили в сушильном шкафу при температуре 80 °С в течение 15 мин и помещали в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную в течение 1 ч смесью растворителей: спирт этиловый 96 % - хлороформ в соотношении 7:3. Когда фронт растворителей достиг края пластинки, её вынули и сушили в сушильном шкафу при температуре 100 °С в течение 5 мин. Затем пластинку просматривали в УФ-свете при длине волны 360 нм. На пластинке проявились пятна: 1) ярко-голубое с R_f 0,82 (солодка), 2) бледно-голубое с R_f 0,64 (элеутерококк) 3) темно-коричневое с R_f 0,10 (толокнянка). После этого пластинку разрезали на две полосы. Одну полосу обработали водно-спиртовым раствором натра едкого и влажной просмотрели в УФ-свете (светофильтр с длиной волны 360 нм). После обработки проявились следующие пятна: 4) бледно-голубое с R_f 0,54 (эхинацея) и 5) темно-коричневое с R_f 0,47 (толокнянка).

Другую полосу обработали раствором ванилина в 10 % спиртовом растворе кислоты

серной и выдержали в сушильном шкафу при температуре 100 0С в течение 2 мин, не допуская почернения пластинки, после чего проявилось пятно б) бледно-сиреневого цвета с R_f 0,75 (левзея). Хроматограмма представлена на рисунке 2.

Рис 2. ТСХ — хроматограмма Виларина.



А - проявление в УФ свете после высушивания.

1 - ярко-голубое пятно (солодка)

2 - бледно-голубое пятно (элеутерокок)

3 - темно-серое пятно (толокнянка)

Б - после обработки 10 % спиртовым раствором натра едкого.

4 - голубое пятно (эхинацея)

5 - темно-серое пятно (толокнянка)

В - после обработки раствором ванилина в 10 % спиртовом растворе кислоты серной.

6 - бледно-сиреневое пятно (левзея)

При отсутствии оборудования для ВЭЖХ идентификацию элеутерококка и левзеи можно проводить только методом ТСХ.

Определение массовой доли суммы фенольных гликозидов.

Около 0,2 г (точная навеска) Виларина помещали в колбу вместимостью 250 мл прибавляли 100 мл спирта этилового 30 %. Колбу с содержимым помещали на аппарат для встряхивания и взбалтывали в течение 15 мин. Полученное извлечение фильтровали через складчатый бумажный фильтр в колбу вместимостью 100 мл, отбрасывая первые 5 мл (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1 мл раствора А, доводят объем раствора спиртом этиловым 30 % до метки и перемешивают раствор Б).

Оптическую плотность раствора Б измеряли на спектрофотометре при длине волны 282 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют спирт этиловый 30 %.

Массовую долю суммы фенольных гликозидов в пересчете на арбутин и на абсолютно сухое вещество в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{10 * 100 * 50 * D * 100 * 100}{m * 1 * 90 * 1000 * (100 - W)} = \frac{500000 * D}{m * 90 * (100 - W)};$$

где D — оптическая плотность испытуемого раствора;

m — навеска стимулена в граммах;

90 — удельный показатель поглощения арбутина;

W — потеря в массе при высушивании стимулена в процентах.

Метрологические характеристики предлагаемой методики определения массовой доли суммы фенольных гликозидов рассчитаны из результатов анализа одного образца виларина в 10 независимых повторностях и представлены в таблице 1.

Таблица 1

Метрологические характеристики методики количественного определения суммы фенольных гликозидов в сухом экстракте

n	f	\bar{x}	ρ	P %	t (p,f)	Δx	$\varepsilon, \%$
10	9	76,86	1,9466	95	2,26	4,3993	$\pm 5,72$

Метрологические характеристики, приведенные в таблице 1, свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения методики с 95 % вероятностью составляет $\pm 5,72 \%$.

Выводы:

Качественные и количественные методы были разработаны для новой БАД "Виларин". Эти методы позволяют точно определить основные активные вещества экстрагированные из суммарного сухого экстракта шести лекарственных растений входящих в эту добавку.

BUROVA A. E., DMITRIEV M. U. OHOTNIKOVA V. F. SOKOLSKAYA T. A.,
PINEJEV S.A.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

METHODS FOR STANDARTIZATION OF VILARIN HAVE BEEN DEVELOPED.

Qualitative and quantitative methods have been developed for the new biological active additive "Vilarin". These methods enable accurate and specific determination of main active compounds extracted from the dry summary extract of six officinal herbs included in this additive. Eleuterosid B and ecdisteron are separated by means of gas chromatograph equipped with an ultra-violet capture detector.

ЗАПЕСОЧНАЯ Г.Г., БЫКОВ В.А.

ВИЛАР, Москва, Россия

КОМПЛЕКСНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПЕРЕРАБОТКИ СОЛОДКИ - *GLYCYRRHIZA L.*

В отечественной Фармакопее под названием "Корень солодки" (лакричный корень) подразумеваются корни солодки голой (*Glycyrrhiza glabra L*) и солодки уральской (*Glycyrrhiza uralensis Fisch.*) сем. бобовых - *Fabaceae*.

Традиционно усилия исследователей, работающих с корнем солодки, были направлены на получение препаратов, содержащих глицирризиновую кислоту (ГК). При этом использовались приемы, приводящие зачастую к полной деструкции фенольного комплекса растения. Нами был предложен технологический способ, позволяющий совместить исчерпывающее извлечение из сырья гликозилированных тритерпеноидов (в частности, ГК) и нативного комплекса флаваноновых гликозидов, и во-вторых, добиться максимально полного разделения этих двух групп соединений [1-6].

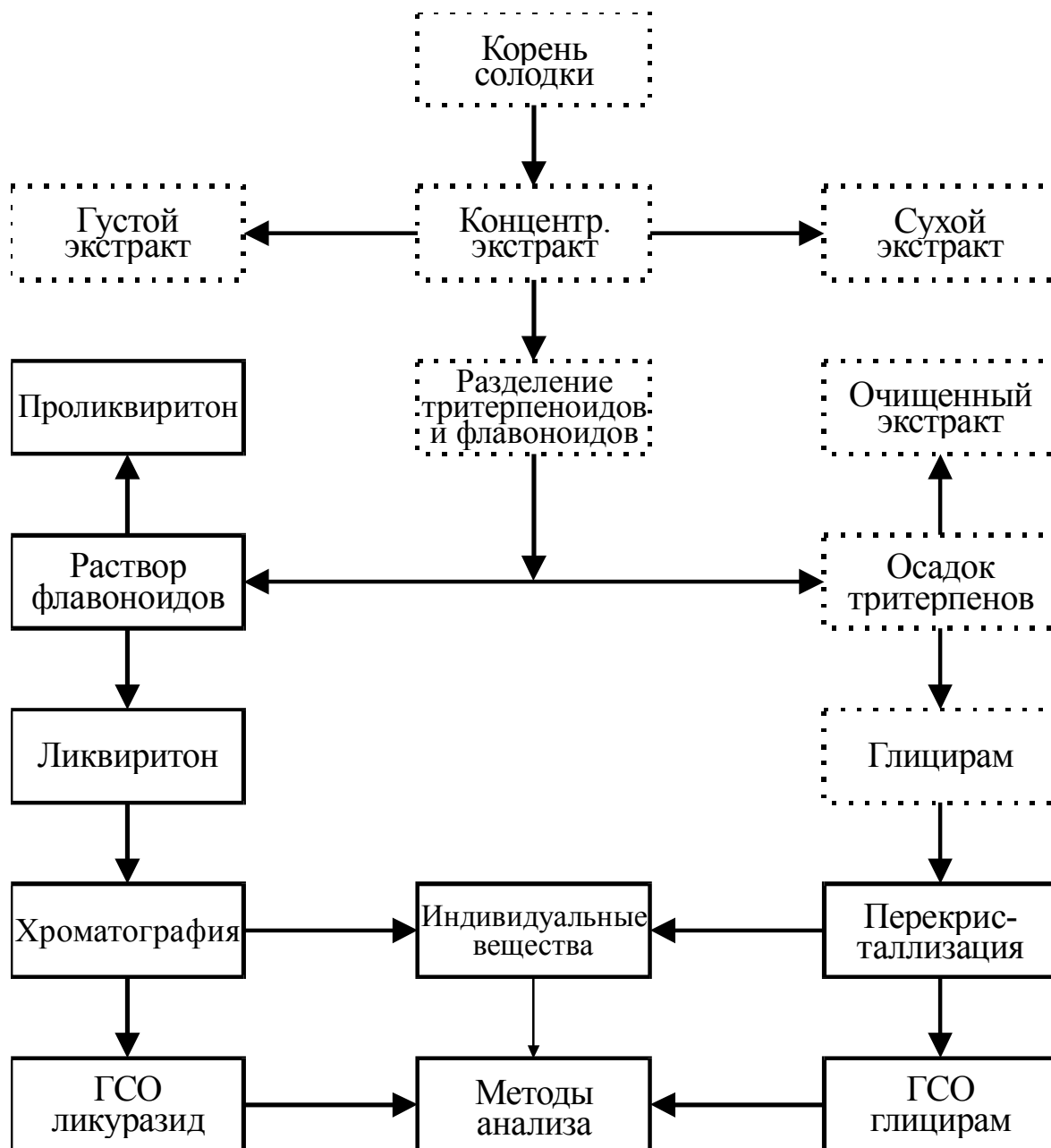
В итоге проведенных работ была предложена комплексная технология переработки корня солодки, предусматривающая производство густого, сухого, очищенного экстрактов и препарата глицирам (моно-аммонийная соль глицирризиновой кислоты) с одной стороны и одновременное получение флавоноидного комплекса (препараты проликвиридон и ликвиридон) [7-10]. Структура проведенной работы приведена на схеме 1.

Для целей стандартизации сырья и препаратов солодки была проведена работа по выделению индивидуальных веществ из корня солодки и их структурная идентификация. Из сырья и препаратов были выделены 14 индивидуальных веществ, отнесенных к пяти группам: тритерпеноиды, флаваноны, халконы, изофлавоны и другие фенольные вещества.

Для выделения веществ были использованы методы избирательной экстракции сырья с последующей многократной хроматографией экстрактов на полиамиде, силикагеле, сефадексе LH-20 и перекристаллизация.

Схема 1

Комплексная технология переработка корня солодки

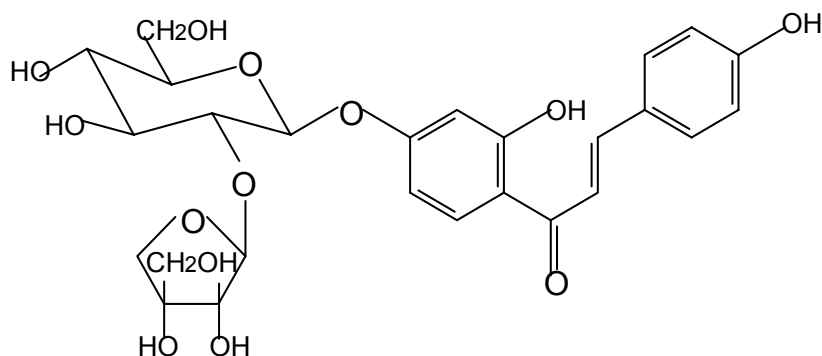


Для установления строения выделенных веществ использовались качественные реакции, результаты химических превращений (ацетилирование, кислотный и ферментативный гидролиз), а также данные УФ-, ИК-, ^1H - и ^{13}C -ЯМР-, масс-спектров (в том числе EI-MS и FD-MS) и в некоторых случаях сравнение с достоверными образцами.

Все флаваноны и халконы солодки относятся к весьма редкой группе веществ этих классов, не имеющей ОН-группы при С-5, и этим во многом объясняется необычность их химических свойств. Все они содержат лишь два заместителя при С-7 и С-4' и построены на основе структуры ликвиритигенина (7,4'-дигидроксифлаванона).

В ходе исследований был выделен 4'-О-глюкозид ликвиритигенина (ликвиритин) и апиозилглюкозид, который не отличается по структуре от флаванон-биозида, описанного в литературе для солодки уральской.

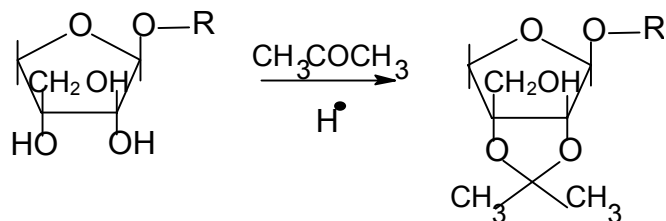
Были выделены также халконовые аналоги, в том числе ликуразид, используемый в качестве стандартного образца.



Л и к у р а з и д

Гликозилированные флаваноны являются основными компонентами фенольного комплекса корней солодки (и флавоноидных препаратов проликвиритона и ликвиритона), а изомерные им халконы, в том числе ликуразид, содержатся в меньших количествах, однако в зависимости от величины рН эти соединения могут переходить друг в друга в ходе технологического процесса переработки солодки.

Следует отметить, что в ходе структурного анализа апиозил-глюкозидов нами была предложена качественная реакция [11] - кетальный тест на наличие 2,3-цис-диольной группировки, позволяющий не только облегчить идентификацию апиозы, но и выбрать изомеры, имеющие цис-ориентацию гидроксильных групп при С₂ и С₃. Раствор ликуразида, содержащего апиозу, при добавлении подкисленного ацетона легко образует кеталь, более подвижный в условиях ТСХ, чем исходное вещество:



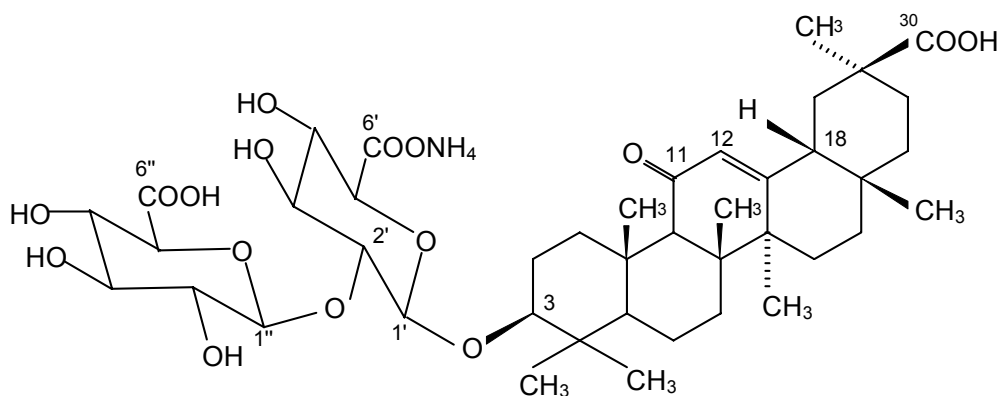
Как уже упоминалось, наиболее изученной является тритерпеновая группа соединений корня солодки, а конкретно – глицирризиновая кислота (выделена из корней солодки еще в 1876 году) и препарат глицирам.

Структурная формула глицирама и глицирризиновой кислоты, приведенная в нормативных документах (например, в фармстатье “Глицирам” [13]), регламентах, многих публикациях и каталогах чистых веществ Fluka, Sigma, Aldrich, Merck Index [14,15], содержит ряд неточностей и, таким образом, нуждается в корректировке.

Нами была уточнена структура углеводной части глицирризиновой кислоты, а также местоположение аммонийной группы в глицираме [1].

При уточнении структуры глицирризиновой кислоты нами были изучены протонные и углеродные спектры ЯМР, установлена β -конфигурация обоих гликозидных связей, пиранозная форма и 4C_1 -конформация обоих D-глюкуроновых фрагментов [1]. Кроме неточной формулы углеводной части, в литературе отмечалось также разночтение в месте присоединения аммонийной группы. Ранее [16] на основании ИК-спектров ее отнесли к карбоксилу С-30 глицирретовой кислоты. Однако, проведенный нами анализ [1] ^{13}C -ЯМР спектров (область резонанса $COOH$ групп) эту версию не подтверждает, и катион NH_4^+ в аммоний-глицирризинате отнесен к карбоксилу при С-6' [1,14].

По своей химической структуре глицирам относится к классу тритерпеноидов и представляет собой моноаммонийную соль глицирризиновой кислоты: 3-О- β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -D-глюкуронопиранозид 3- β -гидрокси-11-оксо-18 β ,20 β -олеан-12-ен-30-овой кислоты (сокращенно: 3-О-биозид 18 β -глицирретовой кислоты) или 6'-моноаммоний глицирризинат [1, 7, 17]:



Г л и ц и р а м

В каталогах сообщается о 95–98% чистоте аммоний-глицирризината, определяемой титрованием, и лишь в последнем издании Sigma [15] приводится чистота методом ВЭЖХ – 75%. Нам же удалось разработать способ получения [18] государственного стандартного об-

разца (ГСО) глицирама с чистотой (ВЭЖХ) не менее 97% [19]. В предложенном способе из корня солодки по регламенту [7] получают субстанцию глицирам, которую многократно перекристаллизовывают из трех различных смесей растворителей и сушат на воздухе в течение 24 часов.

Глицирризиновая кислота относится к тритерпеноидам, но имеет довольно интенсивный максимум поглощения при длине волны 252 нм ($E_{1\text{см}}^{1\%}$ 140) и ее легко детектируют в хроматографе в изократическом режиме элюирования в условиях, приведенных на рис. 1 или на рис. 2.

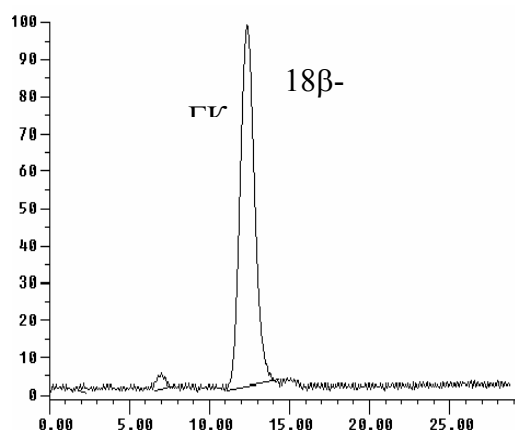


Рис. 1.
Хроматограмма ВЭЖХ
ГСО глицирама

Хроматограф Gilson, колонка
3,9*300 мм, Separon SGX C18, 8мкм,
подвижная фаза MeCN-3%AcOH (35:65),
скорость элюирования 1 мл/мин.
УФ-детектор 252 нм.

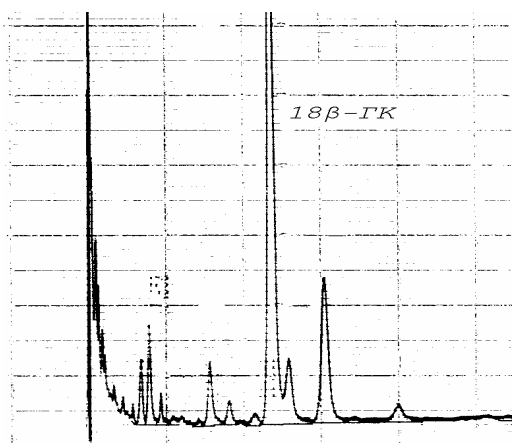


Рис. 2. Хроматограмма ВЭЖХ
очищенного экстракта солодки

Хроматограф Du Pont,
колонка 4,6 * 250 мм, Zorbax ODS,
5 мкм, подвижная фаза MeOH-2.5% AcOH
(58:42), температура колонки 55 °С, ско-
рость элюирования 1 мл/мин.
УФ-детектор 252 нм.

Разработанный нами стандартный образец глицирама [17,18] имеет несущественные примеси и основной пик 18β-ГК составляет не менее 97 % (рис. 1). Субстанция препарата глицирам включает до 15 % 18-эпимера (18α-ГК) и других изомеров ГК, поэтому

основной пик 18 β -ГК составляет лишь 70 %. В этих же условиях анализируют и другие три-терпеновые препараты солодки, такие как густой, сухой и обогащенный экстракты (рис. 2).

При этом в экстрактах определяют также сумму флавоноидов, которая элюируется в первых фракциях (R_t менее 6 мин - рис. 2).

Попутно отметим, что метод ТСХ не позволяет обнаруживать различия между субстанцией и стандартом глицирама, которые выявляет ВЭЖХ, - на тонком слое оба дают одно вытянутое пятно.

Изучены методом ВЭЖХ также флавоноидные препараты проликвиристон и ликвиристон, которые представляют собой многокомпонентные смеси [19]. Их состав был изучен методом ВЭЖХ с линейным градиентом растворителя при элюировании (см. рис. 3). Флавоноиды обладают интенсивным поглощением в УФ-свете, причем флаваноны имеют максимум поглощения при 275 нм (рис. 3А), а халконы - при 375 нм (рис. 3Б).

Таким образом, показана возможность использования метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для качественной и количественной оценки препаратов корня солодки, в том числе их компонентного состава, в условиях обращенно-фазового процесса с изократическим и линейно-градиентным режимом подачи растворителя.

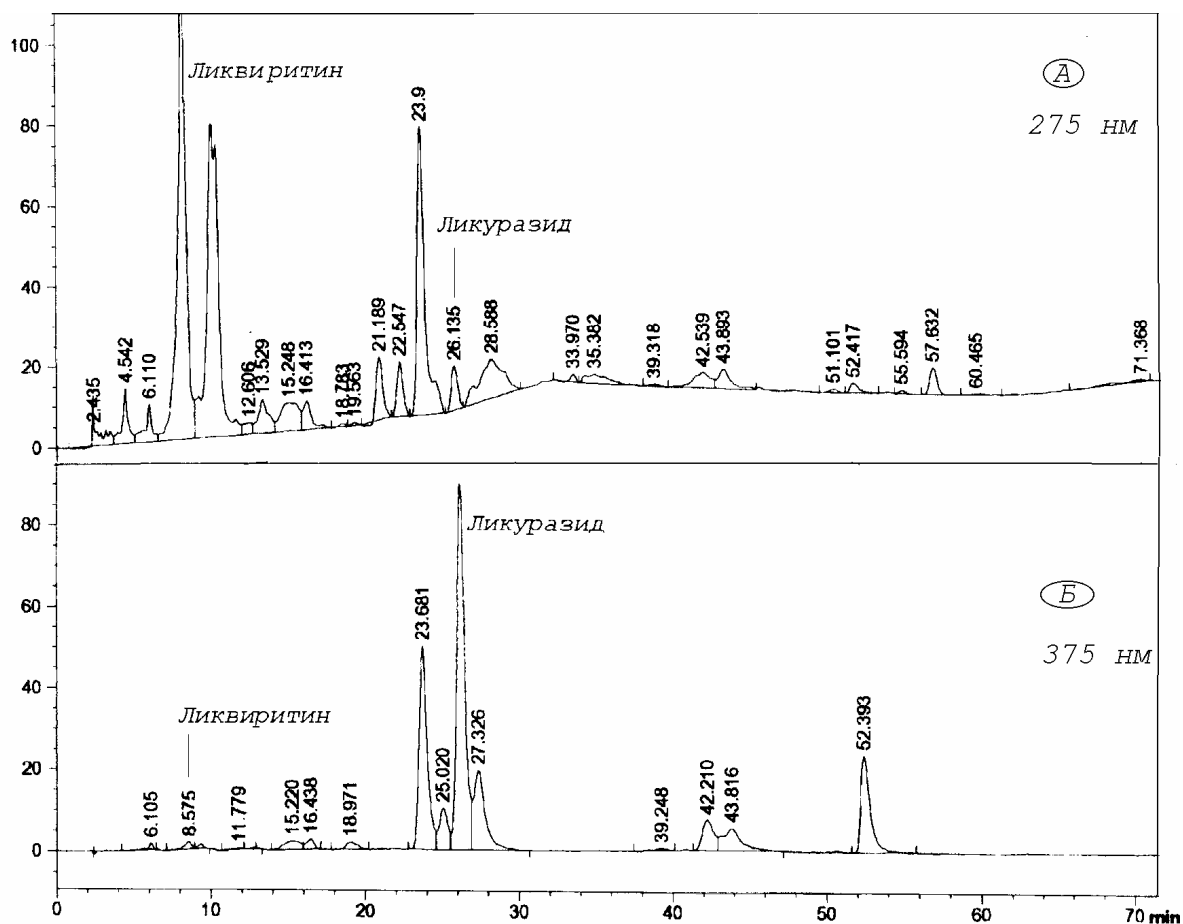


Рис. 3. Хроматограмма ВЭЖХ препарата ликвиритон

Хроматограф Du Pont, колонка 4,6*250 мм, Zorbax ODS, 5 мкм,
подвижная фаза - градиент от 20 до 40 % MeOH в 1,5 % AcOH за 60 мин,
температура колонки 45 °С, скорость элюирования 1 мл/мин.
УФ-детектор 275 нм (А) и 375 нм (Б).

Для практического использования в контроле технологического процесса [7-10] и количественных измерений глицирризиновой кислоты предложено использовать хромато-спектрофотометрию. Отработана методика, пригодная для анализа глицирризиновой кислоты и флавоноидов в сырье, причем было показано что полнота извлечения достигается однократной экстракцией сырья 50% спиртом при кипении в соотношении 1:100. Полученное извлечение используют для **ТСХ- и ВЭЖХ-анализа** глицирризиновой кислоты и для **прямого спектрофотометрирования** флавоноидов.

ТСХ-анализ проводят на “силуфоле УФ 254” в системе *iso*-PrOH–25% NH₄OH (7:3) или BuOH-EtOH-1n NH₄OH (6:3:3). Проявление в УФ-свете 254 нм: глицирризиновая кислота - пятно с голубой флуоресценцией на уровне ГСО глицирама (R_f 0,15). Полосы стандарта и ГК вырезают, элюируют и спектрофотометрируют при 252 нм.

Для анализа флавоноидов в сырье, проликвиритоне и ликвиритоне был разработан метод *прямого спектрофотометрирования* с использованием стандартного образца, выбор которого имеет принципиальное значение. Для этой цели нами был опробован ряд соединений, характеристика которых приведена в таблице 1.

Таблица 1

Удельные коэффициенты поглощения

Стандартный образец	Молекулярная масса	E _{1cm} ^{1%} при длинах волн, нм			
		275	295	315	375
ГСО ликуразид	550	115	200	200	600
ГСО кверцетин	302	380	260	260	780
Ликвиритин	418	320	160	160	-
Ликвиритигенин	256	430	170	170	-

В литературе описана методика анализа флавоноидов в сырье солодки [20], в которой применяется прямое спектрофотометрирование при 295 и 375 нм, а расчет ведется по калибровочному графику, построенному для ликвиритигенина при 295 нм.

Если учитывать возможную унификацию методов анализа флавоноидов в сырье, экстрактах и субстанциях, то выбор в качестве стандарта флаванона ликвиритина или ликвиритигенина нецелесообразен. Хотя они имеют максимум поглощения при 275 нм, как и субстанции флавоноидов, но в данную часть УФ-спектров экстрактов сырья вносит заметный вклад поглощение глицирризиновой кислоты (λ_{max} 252 нм). На поглощение при 295 и 315 нм она не оказывает влияние, поэтому возможно использование как ГСО кверцетина (315 нм), так и ликуразида (295 и 375 нм).

Ликурозид-стандарт малодоступен, его растворы нестабильны и используются в анализе ликвиритона только для одноразового построения калибровочного графика. Напротив, ГСО кверцетин легко доступен, дешев, широко применяется для стандартизации лекарственного растительного сырья и препаратов, его растворы стабильны. Поэтому при изучении сырья в ходе хранения и для анализа флавоноидов в субстанциях проликвиритона и ликвиритона использовался метод прямого спектрофотометрирования с применением ГСО кверцетина и ГСО ликуразида.

Для постадийного контроля в комплексной технологии переработки солодки был также проведен подбор условий *одновременного ВЭЖХ-анализа* флавоноидов и глицирризиновой кислоты в различных субстанциях солодки. Условия ВЭЖХ-анализа (изократический режим) приведены на рис. 2. Полученные при этом данные позволяют на качественном уровне оценить динамику изменения содержания глицирризиновой кислоты и флавоноидов в

различных субстанциях, а замеры с использованием ГСО глицирама делают возможным его количественное определение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Запесочная Г.Г., Звонкова Е.Н., Куркин В.А., Казакова Е.В., Первых Л.Н., Шейченко, Быков В.А. Некоторые свойства глицирризиновой кислоты. // Химия природных соединений, 1994, № 6, С. 772-780.

2. Быков В.А., Запесочная Г.Г. Биомедицинская концепция создания лекарственных препаратов на основе солодки. // Труды НПО "Биомедицинские технологии". Вып. 3, С.31-42. Москва, 1996.

3. Быков В.А., Запесочная Г.Г., Куркин В.А. и др. Солодка: проблемы рационального использования сырья // Научно-практическая конференция "Современное состояние и перспективы научных исследований в области фармации". Тезисы докладов, С.113-114, Самара, 1996.

4. Быков В.А., Запесочная Г.Г., Куркин В.А. и др. Новая концепция создания лекарственных препаратов на основе корней солодки // III Российский национальный конгресс "Человек и лекарство". Тезисы докладов, С.12, Москва, 1996.

5. Быков В.А., Запесочная Г.Г. Комплексная технология переработки корня солодки. // I Международный симпозиум "Новые и нетрадиционные растения и перспективы их практического использования". Тезисы докладов, С.762-763, Пущино, 1995.

6. Запесочная Г.Г., Куркин В.А., Авдеева Е.В., Цыбулько Н.С. Флавоноиды - целевой продукт технологии комплексной переработки сырья солодки. // I Международный симпозиум "Новые и нетрадиционные растения и перспективы их практического использования". Тезисы докладов, С. 764. Пущино, 1995.

7. Запесочная Г.Г., Вечерко Л.П., Первых Л.Н., Казакова Е.В., Шейченко В.И., Лысенко А., Куркин В.А., Коган В.И., Ананьева А.А., Тохтабаева Г.М., Прозорова Л.М., Денисова Л.Н. Опытнo-промышленный регламент на производство глицирама // НПО "ВИЛАР" - 1994. - 140 с.

8. Запесочная Г.Г., Звонкова Е.Н., Евстратова Р.И., Вечерко Л.П., Гриненко Н.А., Куркин В.А., Первых Л.Н., Коган В.И., Ананьева А.А., Прозорова Л.М., Есакова Е.В. Опытнo-промышленный регламент N 39-19-139 на производство сухого экстракта солодкового корня. // НПО "ВИЛАР".-1993. - 77 с.

9. Запесочная Г.Г., Звонкова Е.Н., Евстратова Р.И., Вечерко Л.П., Гриненко Н.А., Куркин В.А., Первых Л.Н., Коган В.И., Ананьева А.А., Прозорова Л.М., Есакова Е.В. Опытнo-

промышленный регламент N 39-19-140 на производство очищенного экстракта солодкового корня . // НПО "ВИЛАР". - 1993. - 152 с.

10. Запесочная Г.Г., Цыбулько Н.С., Ананьева А.А., Бибилова Н.Е., Куркин В.А., Авдеева Опытнo-промышленный регламент на производство ликвиритона (Дополнение к опытно-промышленным регламентам “Глицирам” и “Очищенный экстракт солодкового корня”) . // НПО “ВИЛАР”- 1997. - 152 с.

11. Бибилова Н.Е. Комплексная технология переработки корня солодки. // Диссертация кандид. фармацевт. наук (руководители В.А.Быков, Г.Г. Запесочная). Москва - 1999. - 196 с.

12. Marsch C.A., Levy G.A. Glucuronide metabolism in plant. // Biochem. J. - 1956, V. 63, № 1. - P. 9-14.

13. Фармакопейная статья «Глицирам» (ВФС 42-419-75, Изменение № 1 от 04.02.80 г., Изменение № 2 от 25.07.85 г.).

14. Catalogue FLUKA 1997/98. Chemika-Biochemika (стр. 761). Switzerland, Fluka Chemie AG, 1997.

15. Catalog SIGMA 1998 (стр. 550). USA, Sigma Chemical Company, 1998.

16. Муравьев И.А., Пономарев В.Д., Кравченко Э.К. // Химия природных соединений, № 1, С. 121-122.

17. Быков В.А., Запесочная Г.Г., Куркин В.А., Шейченко В.И., Пинеев С.А. Временная фармакопейная статья «Глицирам - стандартный образец» (находится на рассмотрении в Фармакопейном комитете, 15.06.99 г.)

18. Запесочная Г.Г., Куркин В.А., Авдеева Е.В., Бибилова Н.Е. Технологическая инструкция получения стандартного образца глицирама. // ВИЛАР - 1999. - 28 с.

19. Запесочная Г.Г., Куркин В.А., Пинеев С.А., Бибилова Н.Е., Лапин А.В. ВЭЖХ в анализе сырья и препаратов солодки - Glycyrrhiza L Конференция “Современные тенденции развития фармации”. Тезисы докладов, С. 80-85, Самара, 1999.

20. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. - Новосибирск: Наука, 1990. - 333 с.

ZAPESOCHNAYA G.G., BYKOV V.A.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

COMPLEX TECHNOLOGY OF GLYCYRRHIZA WORKING (TRANSFORMATION).

A complex technological work out of *Glycyrrhiza* root has been proposed.

СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ХИМИЧЕСКОЙ СТАНДАРТИЗАЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ФИТОПРЕПАРАТОВ

Разработка химических методов стандартизации, проводимая в ВИЛАРе в содружестве с кафедрой фармакогнозии Самарского государственного медицинского университета, привела в итоге к серии технологических регламентов и фармакопейных статей на растительное сырье, фитопрепараты и стандартные образцы.

Наиболее трудоемкая часть химической стандартизации - изучение химического состава растительного сырья и препаратов путем выделения индивидуальных компонентов и установления их строения. Многолетний опыт по выделению чистых веществ из растений дал нам возможность разработать методические приемы колоночной хроматографии, позволяющие на малых слоях сорбента достигать хороших результатов и увеличивать эффективность работы в десятки раз. Например, были получены авторские свидетельства на способы получения индивидуальных стандартных веществ с высоким выходом из датиски, ивы, сирени, котовника, эрвы, расторопши, родиолы, солодки; при этом чистота, контролируемая методом ВЭЖХ, составляет не менее 98 %.

Для установления строения выделяемых соединений широко использовались результаты их химических превращений и спектральные данные. Легко доступен и дает полезную структурную информацию метод УФ-спектроскопии с диагностическими реагентами. Применение ИК-спектроскопии позволяет выявлять некоторые дополнительные данные о функциональных группах вещества, однако для решения тонких структурных вопросов целесообразно использовать и другие методы. Наиболее полные сведения о структуре и стереохимии дает спектроскопия ЯМР.

Следует отметить, что многие годы было общепринятым установление структуры углевода и конфигурации гликозидной связи лишь по ИК-спектрам и величине молекулярного оптического вращения флавоноидных гликозидов [1]. Однако, использование такого подхода привело к существенному искажению строения многих соединений [2] с предложением фураноидной формы сахаров и маловероятных типов гликозидной связи, трактованию одних и тех же веществ как изомеров.

В связи с этим, нами были проведены исследования флавоноидных гликозидов с использованием данных спектроскопии протонного магнитного резонанса, который позволяет удачно сочетать решение структурных и конформационных вопросов.

В ходе систематического изучения ЯМР-спектров 200 соединений (сравнение спектров исходного вещества и его полного ацетата) нами выявлены закономерности [3,4], на основе которых предложены объективные методические пути решения структурных проблем в химии флавоноидных гликозидов и их ацилпроизводных [5], в дальнейшем использованные для гликозидов других классов. Так, нами было установлено строение 26 ацилгликозидов флавоноидов [5], ряда фенилпропаноидов [6-8], флаволигнанов [9,10], флавоноидных гликозидов [9,11], ряда алкалоидов [12], иридоидов [13], алгинозида - γ -лактона, содержащего необычный скелет из 7 углеродных атомов [14], изучена структура моно-терпенового глюкозида [15] и тритерпенового биозида - глицирризиновой кислоты [16].

Следует заметить, что существенно дополняющим ЯМР методом при установлении структуры природных соединений служила масс-спектрометрия, особенно метод десорбции сильным электрическим полем [17,18], позволяющий получать молекулярные ионы для сложных ацилированных гликозидов.

На основе исследования химического состава и свойств отдельных компонентов лекарственных растений были разработаны методы определения подлинности сырья и препаратов, посторонних примесей, а также методы количественного определения целевых веществ. В этих разделах химической стандартизации мы использовали ТСХ в сочетании с некоторыми химическими реакциями (с диазореактивом, с реактивом Гиббса, проба Синода и др.), приводящими к окрашенным продуктам. Для количественных аналитических целей использовали в основном УФ-спектрофотометрию в сочетании с хроматографией (ТСХ, ВЭЖХ, иногда КХ). В частности, методом ВЭЖХ был проведен количественный анализ датиски коноплевой, рябины черноплодной, сирени обыкновенной [8], тополя и прополиса, солодки, родиолы розовой и ее клеточной культуры [7,19,20], а также субстанций на их основе.

Для целей стандартизации сырья и препаратов датиски, родиолы, расторопши, элеутерококка, сирени, тополя, прополиса, солодки и др. разработаны и утверждены Государственные стандартные образцы датисцин (ВФС 42-1583-85), сирингин (ВФС 42-2088-92), силибин (ВФС 42-3383-99), розавин (ВФС 42-3434-99), пиностробин (ВФС 42-3672-00) и глицирам.

В процессе разработки находятся стандартные образцы триандрин и саликортин - для клеточной культуры родиолы розовой, коры двух видов ивы и препаратов на их основе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ковалев И.П., Литвиненко В.И. Исследование флавоноидных гликозидов. 1. Моногликозиды. // Химия природных соединений, 1965, № 4, С. 233-241.
2. Farkas L., Vermes S. et al. The final structure of Robinin and Biorobin and their total Synthesis. // Phytochemistry. - 1976. V. 15. P/ 215-218.
3. Запесочная Г.Г. Изучение структуры и стереохимии флавоноидных 0-арабинозидов и ксилозидов с помощью спектроскопии ПМР. // Химия природных соединений, 1979, № 1, С. 21-34.
4. Запесочная Г.Г. Изучение структуры и стереохимии флавоноидных 0-рамнозидов с помощью спектроскопии ПМР. //Химия природных соединений, 1982, № 6, С. 695-709.
5. Запесочная Г.Г. Структурный анализ природных флавоноидных гликозидов и их ацилпроизводных. //Сборник научных трудов ВИЛР.- М., ВИЛАР, 1983, С. 53-77.
6. Куркин В.А., Запесочная Г.Г. Гликозиды коричневого спирта из корневищ *Rhodiola rosea*. // Химия природных соединений, 1982, № 6, С. 723-727.
7. Запесочная Г.Г., Куркин В.А., Дубичев А.Г и др.. Фенилпропаноиды каллусной культуры *Rhodiola rosea*.// Химия природных соединений, 1991, № 4, С. 481-490.
8. Запесочная Г.Г., Куркин В.А., Гриненко Н.А. и др. ТСХ- и ВЭЖХ-анализ сирингина в сирени обыкновенной. // Химия природных соединений, 1992, № 1, С. 45-49.
9. Запесочная Г.Г., Куркин В.А. Флавоноиды корневищ *Rhodiola rosea*. II. Флавонолигнан и гликозиды гербацетина.// Химия природных соединений, 1983, № 1, С. 23-32.
10. Куркин В.А., Запесочная Г.Г. Флаволигнаны и другие природные лигнаноиды. Проблемы структурного анализа (обзор). // Химия природных соединений, 1987, № 1, С. 11-35.
11. Запесочная Г.Г., Куркин В.А., Щавлинский А.Н. Флавоноиды надземной части *Rhodiola rosea*. II. Строение новых гликозидов гербацетина и госсипетина. // Химия природных соединений, 1985, № 4, С. 496-507.
12. Zapesochnaya G., Kurkin V., Okhanov V., Miroshnikov A. Canthin-6-one and β -Carboline Alkaloids from *Aerva lanata*. // Planta medica, 1992, V. 58, N 2, P. 192-196.
13. Запесочная Г.Г., Куркин В.А., Первых Л.Н, Карасартов Б.С. Велпетин - новый иридоидный гликозид из *Nepeta velutina*. // Химия природных соединений, 1991, № 6, С. 777-781.
14. Запесочная Г.Г., Пангарова Т.Т., Чертков В.А. Строение алгинозида, γ -лактона из *Rhodiola algida*. // Химия природных соединений, 1975, № 3, С. 334-339.
15. Запесочная Г.Г., Куркин В.А., Щавлинский А.Н. Терпеноиды корневищ *Rhodiola rosea*. // Химия природных соединений, 1985, № 5, С. 632-636.
16. Запесочная Г.Г., Звонкова Е.Н., Куркин В.А. и др. Некоторые свойства глицирризиновой

кислоты. // Химия природных соединений, 1994, № 6, С. 772-780.

17. Запесочная Г.Г., Степанов А.Н., Перов А.А. Масс-спектры полевой десорбции флавоноидных ацилгликозидов. //Химия природных соединений, 1984, № 5, С. 573-590.
18. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Толкачев В.О. Масс-спектры электронного удара природных фенилэтаноидов. // Химия природных соединений, 1994, № 4, С. 506-509.
19. Быков В.А., Запесочная Г.Г., Куркин В.А. Родиола розовая (*Rhodiola rosea* L.): традиционные и биотехнологические аспекты получения лекарственных средств (обзор). // Химико-фармацевтический журнал, 1999, Т.33, № 1, С. 28-39.
20. Zapesochnaya G.G., Kurkin V.A. The comparative study of phenylpropanoids of *Rhodiola rosea* L. rhizomes and tissue cultures. // F.E.C.S. Fifth International Conference on Chemistry and Biotechnology of biologically aktive Natural Products. - Varna, Bulgaria, 1989. Conference papers, V. 5, P. 204-207.

ZAPESOCHNAYA G.G., KURKIN V.A.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

SamGMU, Samara, Russia

STRUCTURAL ANALYSIS OF NATURAL COMPOUNDS IN THE CHEMICAL STANDARTIZATION OF MEDICINAL PLANTS SOURCE AND PHYTODRUGS.

Chromatographic methods of various phytodrugs have been warked out.

ЗАПЕСОЧНАЯ Г.Г., КУРКИН В.А., АВДЕЕВА Е. В.

ВИЛАР, Москва; СамГМУ, Самара, Россия

ФЕНИЛПРОПАНОИДЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ: СОЗДАНИЕ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ФИТОПРЕПАРАТОВ

В медицинской практике широко применяются лекарственные средства на основе сырья родиолы розовой, элеутерококка колючего, лимонника китайского, эхинацеи пурпурной, Melissa лекарственной, биологическая активность которых обусловлена в основном фенилпропаноидами. В этой связи нами предложено трактовать фенилпропаноиды как самостоятельную группу биологически активных соединений [1].

Цель настоящей работы – обобщение и систематизация результатов собственных исследований и литературных данных в области создания и стандартизации препаратов на основе лекарственного растительного сырья, содержащего фенилпропаноиды.

В центре внимания наших исследований были такие лекарственные растения, как родиола розовая и биомасса культуры тканей родиолы розовой, элеутерококк колючий, сирень обыкновенная, ива корзиночная, ива остролистная, эхинацея пурпурная, мелисса лекарственная.

В результате проведенных систематических исследований по созданию целого ряда препаратов в рамках Республиканской программы “Совершенствование лекарственного обеспечения населения и лечебно-профилактических учреждений в рыночных условиях” решались проблемы стандартизации с учетом особенностей химического состава лекарственного сырья и фитопрепаратов, а также принципа унификации методик анализа в ряду: сырье – субстанция – лекарственная форма. При этом были разработаны новые методические и методологические подходы к стандартизации лекарственного сырья и препаратов корневищ родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.), биомассы культуры ткани *Rhodiola rosea* L., коры ивы корзиночной (*Salix viminalis* L.), коры сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.), корневищ элеутерококка колючего [*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim.], травы эхинацеи пурпурной [*Echinacea purpurea* (L.) Moench.], *õðàâû îàëëññû ëââððñòââííé* (*Melissa officinalis* L.). Для целей стандартизации разработана целая серия Государственных стандартных образцов (ГСО) на основе коричневых спиртов (**1, 3, 5**): розавин (ВФС 42-3435-99), сирингин (ВФС 42-2088-92), триандрин (проект ВФС).

Принципиальное значение имеет выбор стандартного образца. Для этой цели был опробован ряд соединений, характеристика которых приведена в таблице 1. При этом нами учитывалась возможность унификации методов анализа сырья, экстрактов и субстанций.

Таблица 1

Удельные коэффициенты поглощения некоторых фенилпропаноидов

Стандартный образец	Молекулярная масса	$E_{1\text{см}}^{1\%}$	λ_{max} нм
ГСО сирингин	390	455	266
ГСО розавин	428	457	252
РСО триандрин	330	670	264
Розмариновая кислота	536	500	326
Цикориевая кислота	474	782	330
Хлорогеновая кислота	354	630	329
Тилирозид	594	570	315

ГСО сирингин (ВФС 42-2088-92) - в коре сирени обыкновенной (ВФС 42-2106-92), в сухом экстракте элеутерококка (ВФС 42-2090-92) и корнях элеутерококка колючего (Изменение № 1 к ФС 42-2725-90 от 24.02.92 г.), ГСО розавин (ВФС 42-3434-99) - в настойке родиолы розовой (ВФС 42-3435-99) и корневищах родиолы розовой (Изменение № 1 к ГФ XI, в. 2, ст. 75 от 19.05.99 г.).

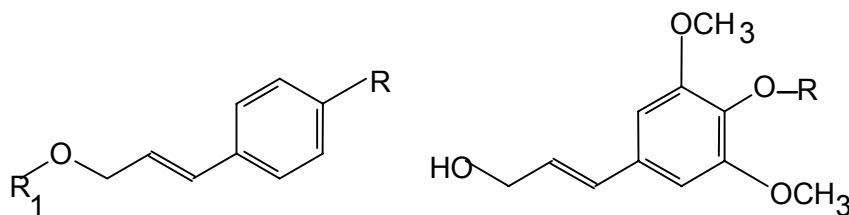
РСО триандрин (проект ВФС) - в жидком экстракте и биомассе культуры клеток родиолы розовой и коре ивы корзиночной.

Розмариновая кислота (7) - в настойке Melissa (проект ВФС) и траве Melissa лекарственной (проект Изменения № 1 к ВФС).

Цикориевая кислота (8) - в настойке эхинацеи пурпурной (ВФС 42-3382-99).

Хлорогеновая (9) и дикофеоилхинные кислоты (10) были использованы нами при стандартизации цветков бессмертника итальянского (ВФС 42-2138-92)

Ацилгликозиды тилирозид (13) и кумароил-тилирозид - при стандартизации травы эрвы шерстистой (ВФС 42-2848-92).



1. Коричный спирт: R = R₁ = H;

5. Синаповый спирт: R = H;

2. Розавин: R=H; R₁ = вицианозил;

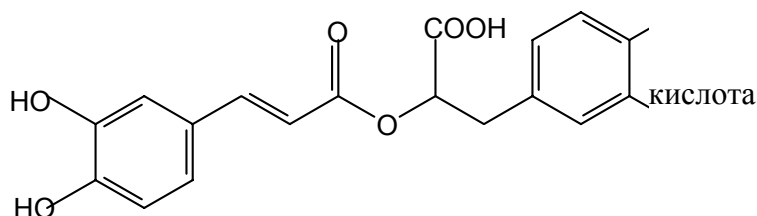
3. п-Кумаровый спирт: R = OH; R₁ = H;

6. Сиригин (Элеутерозид

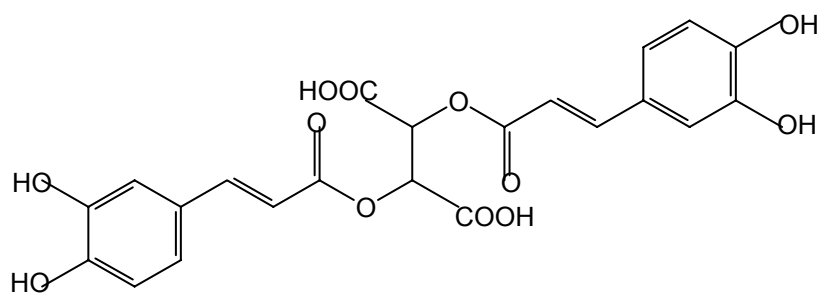
В):

4. Триандрин: R = OH; R₁ = β-D-глюкопиранозил;

R = β-D-глюкопиранозил

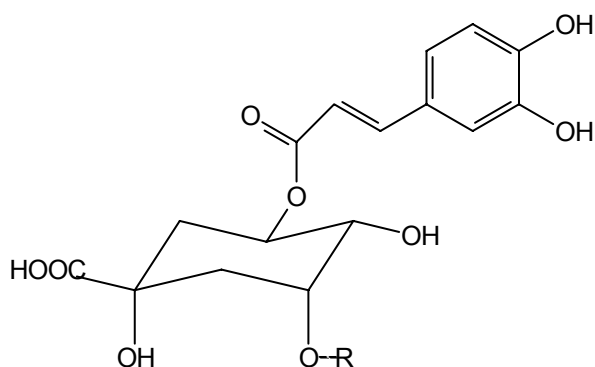


7 Розмариновая



2,3-Дикофеоил-винная
кислота

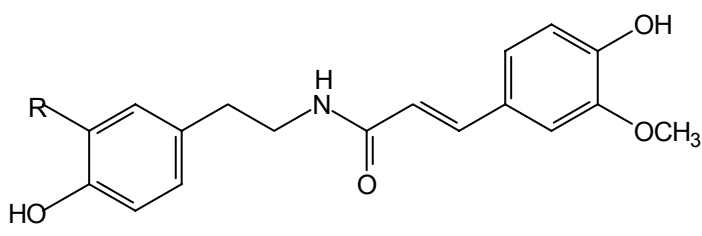
(8 – Цикориевая кислота)



9 R = H Хлорогеновая кислота

10 R = Кофеоил

3,5-Дикофеоил-хинная кислота

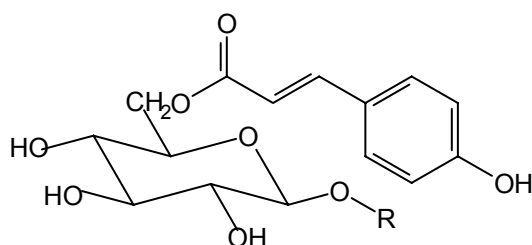


Ферулоил-амиды

11 R = H

12 R =

OCH₃



13 Тилирозид (6''-n-кумароил-астрагалин)

R = 3-О-кемпферол

3-0-(6''-n-кумароил)-β-D-

глюкопиранозид 3,5,7,4'-тетрагидроксифлавона

По нашим данным [6,15] одним из основных компонентов биомассы культуры клеток родиолы розовой (особенно суспензионной культуры), обладающей стимулирующими и

адаптогенными свойствами, является гидроксирозин с соответствующей биологической активностью [3,4,13,14]. Поскольку производство гидроксирозина из биомассы родиолы розовой слишком сложно и нерентабельно, нами найден более дешевый растительный источник и разработан технологический регламент производства триандрина из коры ивы корзиночной (*Salix viminalis* L.). При этом было установлено, что гидроксирозин [6] имеет строение β -D-глюкопиранозида 4-гидрокси-транс-коричного спирта (**4**). Родственное соединение с цис-конфигурацией двойной связи, описанное в литературе под названием “триандрин” [16], было выделено из коры ивы трехтычинковой (*Salix triandra* L.) и ивы корзиночной (*Salix viminalis* L.). Мы повторили этот эксперимент, выделили триандрин и вималин (4-О-метилтриандрин), на основании данных ЯМР установили транс-конфигурацию двойной связи в них и доказали полную идентичность триандрина гидроксирозину [6]. Таким образом, структура триандрина и вималина, приведенная в литературе [16], должна быть исправлена.

В ходе исследования химического состава каллусной культуры родиолы розовой были выделены 11 соединений, которые имеют скелет фенилпропана (C_6-C_3) и относятся к производным *n*-кумарового спирта и *n*-кумаровой кислоты, а также к лигнанам [6].

Производные коричневого спирта (**1-6**) образуют основополагающую группу фенилпропаноидов причем они наиболее распространены в виде циннамил-гликозидов [2]: розавин (**2**), триандрин (**4**), вималин [6], кониферин [7,8], сирингин (**6**). Довольно нередки и димерные производные - лигнаны, в основном на основе кониферилового спирта.

Вторая группа фенилпропаноидов - коричные кислоты - часто встречается в виде сложных производных: например, димер кофейной кислоты - розмариновая кислота (**7**) [12]. Но главным образом они выступают в виде ацилирующих агентов: с винной кислотой - цикориевая кислота (**8**), с хинной кислотой - хлорогеновая и дикофеоил-хинные кислоты (**9,10**), с алкалоидами - ферулоиламиды (**11, 12**) и с разными гликозидами, например, **13** - ацилгликозиды флавоноидов [17].

Моно- и дикофеоил-хинные кислоты (**9** , **10**) [9] были использованы нами при стандартизации бессмертника итальянского (ВФС 42-2138-92), ацилгликозиды тилирозид (**13**) и кумароил-тилирозид и ферулоиламиды (**11, 12**) [10] - при стандартизации эрвы шерстистой (ВФС 42-2848-92).

Нами разработаны методы качественного и количественного анализа сырья ряда лекарственных растений, содержащих фенилпропаноиды, при этом были проведены целенаправленные исследования по поиску стандартных образцов веществ, пригодных для целей стандартизации.

Предложена унифицированная система растворителей для ТСХ на “силуфоле УФ 254” (хлороформ-метанол-вода 26:14:3), для определения подлинности растительного сырья. Определение подлинности основано на обнаружении доминирующих компонентов - тилирозида (**13**) и кумароил-тилирозида в траве эрвы шерстистой (*Aerva lanata* Juss.), розмариновой кислоты (**7**) в мелиссе лекарственной (*Melissa officinalis* L.), хлорогеновой и дикофеоилхинных кислот (**9,10**) в цветках бессмертника итальянского (*Helichrysum italicum* Juss.), синрингина (**6**) в коре сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.) и корнях элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus* Rupr. et Maxim.), розавина (**2**) в корневищах родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.).

Для обнаружения веществ на хроматограммах используют детекцию в УФ-свете и различные реагенты. Характерна реакция с 16 % серной кислотой (например, синрингин образует яркое синее окрашивание, а розавин - сиреневое). Фенольные соединения проявляются диазобензолсульфокислотой в растворе Na_2CO_3 в виде пятен от желтого до малинового цвета в зависимости от структуры.

Фенилпропаноиды имеют интенсивные УФ-спектры (табл. 1), которые использованы нами для определения подлинности сырья, препаратов и стандартов. Это их свойство позволяет проводить количественное определение фенилпропаноидов в ряде растений (и субстанций на их основе) прямым спектрофотометрированием или в сочетании с хроматографией (ТСХ, ВЭЖХ, иногда КХ). В частности, методом ВЭЖХ был проведен количественный анализ сирени обыкновенной [11], бессмертника итальянского [9], тополя и прополиса, родиолы розовой и ее клеточной культуры [5,6], а также *Eleutherococcus senticosus*.

В ходе химических и фармакологических исследований нами наиболее подробно изучены коричный спирт (**1**), розавин (**2**), *n*-кумаровый спирт (**3**), триандрин (**4**), синаповый спирт (**5**), синрингин, или элеутерозид В (**6**), выделенные из корневищ *Rhodiola rosea* L. (**1, 2**), культуры тканей *Rhodiola rosea* L. (**4**), коры *Salix viminalis* L. (**3, 4**), *Syringa vulgaris* L. (**5, 6**), *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim. (**6**).

Особый интерес представляют гликозиды коричневого спирта (**2, 4, 6**), которые обладают выраженными стимулирующими и иммуномодулирующими свойствами (увеличение спонтанной двигательной активности и антигипнотическое действие) [3,4,13,14].

Стимулирующая активность соединений **2, 4, 6** уменьшается в ряду: триандрин (**4**) > розавин (**2**) > синрингин (**6**). Иммуностимулирующая активность гликозидов коричневого спирта в том же ряду увеличивается.

Экспериментальный материал, накопленный нами в ходе создания тонизирующих, адаптогенных и иммуномодулирующих препаратов и включающий блок химических, техно-

логических и медико-биологических исследований, позволил нам выявить некоторые закономерности. Так, на основе изучения зависимости биологической активности от химической структуры фенилпропаноидов (розавин, триандрин, сиригин или элеутерозид В) нами предложена новая концепция создания фитопрепаратов, в основе которой лежат методологические подходы к стандартизации сырья и фитопрепаратов, позволяющие объективно оценивать качество продукции по содержанию нативных фенилпропаноидов, в том числе циннамилгликозидов. Данные подходы применимы и к новым перспективным иммуностимулирующим лекарственным растениям (сирень обыкновенная, ива корзиночная, культура ткани родиолы розовой, лопух большой), содержащим фенилпропаноиды.

В результате проведенных исследований предложены новые тонизирующие, адаптогенные и иммуномодулирующие лекарственные средства “Настойка родиолы розовой” (ВФС 42-3434-99), “Сироп родиолы розовой”, стандартизация которых осуществляется по содержанию доминирующего фенилпропаноидного гликозида - розавина, характерного биологически активного соединения корневищ родиолы розовой. Разработанные методики качественного и количественного анализа сырья, настойки родиолы розовой и сиропа родиолы розовой создают предпосылки для объективного контроля качества продукции. Аналогичные методические и методологические подходы разработаны нами также для экстракта родиолы жидкого, применяемого в медицинской практике в качестве тонизирующего и адаптогенного средства.

Одним из наиболее интересных направлений биологической активности фитопрепаратов, получаемых из данных растений, является иммуномодулирующее действие, обусловленное в основном фенилпропаноидами.

Наибольший интерес в качестве источника иммуномодулирующих лекарственных средств представляет эхинацея пурпурная, корневища и трава которой служат источником получения целого ряда зарубежных препаратов (иммунал, эхинацин, эхинафорс и др.) и отечественного лекарственного средства “Эстифан”. В результате проведенных исследований нами предложено новое лекарственное средство “Настойка эхинацеи пурпурной”

(ВФС 42-3382-99), превосходящая по содержанию фенилпропаноидов препараты иммунал, эхинацин и настойку доктора Тайсса в 7, 10 и 35 раз соответственно.

Несомненный интерес представляет и трава Melissa лекарственной, служащая источником получения седативных препаратов, для которых также характерны иммуностимулирующие и противовирусные свойства. Это стало основанием для разработки ряда препаратов на основе сырья данного растения: “Настойка Melissa”, “экстракт Melissa жидкий”, “Экстракт-концентрат Melissa”, “Сироп Melissa”.

Следует отметить, что сочетание седативных и иммуномодулирующих свойств в обсуждаемых препаратах Melissa лекарственной позволяет рекомендовать их для применения в лечении и профилактике экологически и профессионально обусловленных заболеваний.

Таким образом, внедрение новых лекарственных средств на основе лекарственного растительного сырья, содержащего фенилпропаноиды, в сочетании с объективными подходами к стандартизации сырья и фитопрепаратов позволит насытить фармацевтический рынок Российской Федерации препаратами, отвечающими требованиям фармакоэкономики с точки зрения эффективности, безопасности и себестоимости курса лечения (в 15-20 раз дешевле зарубежных аналогов).

Л и т е р а т у р а

1. Куркин В.А. Фенилпропаноиды - перспективные природные биологически активные соединения. – Самара: СамГМУ, 1996. - 80 с.
2. Куркин В.А., Запесочная Г.Г. Гликозиды коричневого спирта из корневищ *Rhodiola rosea*. // Химия природных соединений, 1982, № 6, С. 723-727.
3. Соколов С.Я., Бойко В.П., Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Рванцова Н.В., Гриненко Н.А. Сравнительное исследование стимулирующих свойств некоторых фенилпропаноидов. // Химико-фармацевтический журнал, 1990, Т.24, № 10, С. 66-68.
4. Запесочная Г.Г., Куркин В.А., Бойко В.П., Колхир В.К. Фенилпропаноиды – перспективные биологически активные вещества лекарственных растений . // Химико-фармацевтический журнал, 1995, Т.29, № 4, С. 47-50.
5. Дубичев А.Г., Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Воронцов Е.Д. Изучение химического состава корневищ *Rhodiola rosea* методом ВЭЖХ. // Химия природных соединений, 1991, № 2, С. 188-193.
6. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Дубичев А.Г. и др.. Фенилпропаноиды каллусной культуры *Rhodiola rosea*. // Химия природных соединений, 1991, № 4, С. 481-490.
7. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Вандышев В.В. Фенольные соединения *Eleuterococcus senticosus*. // Химия природных соединений, 1991, № 6, С. 854-856.
8. Куркин В.А., Евстратова Р.И., Запесочная Г.Г. Фенольные соединения коры *Eleuterococcus senticosus*. // Химия природных соединений, 1992, № 5, С. 585-586.
9. Запесочная Г.Г., Куркин В.А., Кудрявцева Т.В. и др. Дикофеоилхинные кислоты *Helichrysum italicum* и *Achillea cartilaginea*. // Химия природных соединений, 1992, № 1, С. 50-55.
10. Запесочная Г.Г., Куркин В.А., Первых Л.Н. Изучение травы *Aerva lanata*. II. Ферулоиламиды . // Химия природных соединений, 1990, №5, С. 694-695.

11. Куркин В.А., Гриненко Н.А., Запесочная Г.Г. и др. ТСХ- и ВЭЖХ-анализ синрингина в сирени обыкновенной. // Химия природных соединений, 1992, № 1, С. 45-49.
12. Куркин В.А., Куркина Т.В., Запесочная Г.Г. и др. Химическое исследование травы *Melissa officinalis*. // Химия природных соединений, 1995, № 2, С. 318-320.
13. Kurkin V.A., Zapesochnaya G.G., Ezhkov V.N. et al. The comparative study of neurotropic activity of the some phenylpropanoids. // Archives of Pharmacology. Supplement 2 to Volume 358, № 1 1998). XIIIth International Congress of Pharmacology. Abstracts, 51.58. Munchen, Germany, 1998.
14. Kurkin V.A., Zapesochnaya G.G., Avdeeva E.V. Phenylpropanoids of some medicinal plants. // 2 International Symposium on the Chemistry of natural Compounds. Abstracts, 014, 1996, Eskisehir-Turkey.
15. Zapesochnaya G.G., Kurkin V.A. The comparative study of phenylpropanoids of *Rhodiola rosea* L. rhizomes and tissue cultures. // F.E.C.S. Fifth International Conference on Chemistry and Biotechnology of biologically aktive Natural Products. - Varna, Bulgaria, 1989. Conference papers, V. 5, P. 204-207.
16. Karrer W. Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe. Ergänzungsband 2, Teil 2. Basel, Boston, Stuttgart. Birkhauser Verlag. - 1985. - № 6673.
17. Запесочная Г.Г. Структурный анализ природных флавоноидных гликозидов и их ацилпроизводных. // Сборник научных трудов ВИЛР.- М., ВИЛАР, 1983, С. 53-77.

ZAPESOCHNAYA G.G., KURKIN V.A., AVDEEVA E.V.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia;
SamGMU, Samara, Russia

PHENYLPROPANOIDS OF MEDICINAL PLANTS: CREATION AND STANDARTIZATION OF PHYTODRUGS

Review of the autor'work on phenylpropanoids study in medicinal plants and their standartization.

АНТОНОВА О.К., ЛИБИЗОВА Л.Ф., ВЕЧКАНОВА Л.Д.
ПЭЗ ВИЛАР, Москва, Россия

КОМПЛЕКСНАЯ ПЕРЕРАБОТКА ПЛОДОВ АММИ БОЛЬШОЙ

Разработка малоотходной и ресурсосберегающей технологии препаратов из растительного сырья всегда являлась актуальной задачей. И в этом плане плоды амми большой (*Ammi majus* L.) представляют собой большой практический интерес, так как в них содер-

жаты биологически активные вещества, на основе которых в ВИЛАРе разработаны два эффективных препарата - аммифурин и анмарин [1,2].

Аммифурин представляет собой сумму трех природных фурукумаринов - бергаптена, изопимпинеллина и ксантотоксина и в настоящее время является единственным отечественным препаратом для лечения витилиго, псориаза, гнездового и тотального облысения [3]. Применяют препарат в виде таблеток 0,02 г и 0,3% раствора [4,5].

Анмарин представляет собой смесь двух изомеров ангидромармезина, который получают путем дегидратации мармезина хлористым тиоилом, в свою очередь мармезин получают из природного мармезинина после его гидролиза и очистки. Анмарин является оригинальным отечественным препаратом, в зарубежных фармакопеях идентичный препарат не описан. Анмарин предназначен для лечения дерматомикозов, микроспории, трихофитии, эпидермофитии, а также при себорее волосистой части головы. На фоне дорогих зарубежных препаратов подобного действия производство анмарина имеет хорошие перспективы. Применяют препарат в виде 1% линимента и 0,25% спиртового раствора [6,7].

С целью комплексного использования сырья на заводе разработаны две принципиальные схемы переработки плодов амми большой: первая на производство аммифурина, где анмарин получают из отходов основного производства - водно-спиртового маточного раствора [8,9] и вторая - на производство анмарина, где аммифурин получают из отходов основного производства - дихлорэтанового форэкстракта [10]. Оба способа защищены авторскими свидетельствами [11-13]. В зависимости от требований рынка можно использовать ту или иную схему переработки плодов амми большой, законсервировав ценный отход в виде твердого полупродукта на соответствующих стадиях.

Обе схемы позволяют резко снизить расход растительного сырья. При получении анмарина по первой схеме расход плодов амми большой снижается как минимум в 2,2 раза по сравнению с тем же расходом по второй схеме; во столько же раз снижаются трудозатраты на единицу продукции. При получении аммифурина из того же сырья по второй схеме расход сырья и спирта покрывает производство практически 2 кг аммифурина. Общие трудозатраты на 1 кг аммифурина снижаются минимум в 1,4 раза.

Таким образом, в результате комплексного использования плодов амми большой удастся резко снизить материальный индекс производства и трудозатраты на единицу продукции, а также получить ценные препараты - аммифурин и анмарин, соответствующие действующей НД.

ЛИТЕРАТУРА

1. ФС 42 - 1303 - 99. Аммифурин.
2. ВФС 42 - 1941 - 89. Анмарин.
3. Справочник. Лекарственные средства, применяемые в медицинской практике в СССР. Под редакцией Ключева М.А., Москва, Медицина, 1989.
4. ФС 42 - 3764 - 99. Таблетки аммифурина 0,02 г.
5. ФС 42 - 3765 - 99. Раствор аммифурина 0,3%.
6. ВФС 42 - 2417 - 94. Линимент анмарина 1%.
7. ВФС 42 - 2416 - 96. Раствор анмарина 0,2%.
8. Промышленный регламент на производство аммифурина № 64 - 1800 - 087 - 88, ПЭЗ ВИЛАР.

9. Опытнo - промышленный регламент на производство анмарина № 64 - 1800 - 097 - 90, ПЭЗ ВИЛАР.

10. Опытнo - промышленный регламент на производство анмарина из плодов амми большой № 64—1800—101—90, ПЭЗ ВИЛАР.

11. А.с. № 1176477 (СССР). Способ получения аммифурина. Авторы: Антонова О.К., Шемерянкин Б.В., Прибылова Г.Ф. и др.

12. А.с. № 1748322 (СССР). Способ получения мармезина. Авторы: Антонова О.К., Прибылова Г.Ф., Скляр Ю.Е. и др.

13. А.с. № 1370966. Способ получения биологически активной суммы кумаринов. Авторы: Горбунов В.Д., Скляр Ю.Е., Ерохина Л.В. и др.

O. K. Antonova, L.F. Libizova, L.D. Vechkanova.
All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

COMPLEX USE OF FRUCTUS AMMI MAJUS L.

Complex use of Fructus Ammi majus L. and technico-economical indexes of drug production are discussed.

АНТОНОВА О.К., ЛИБИЗОВА Л.Ф., ВЕЧКАНОВА Л.Д., ВАЛЬ Е.В.
ПЭЗ ВИЛАР, Москва, Россия

ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ПЕРЕРАБОТКЕ ПЛОДОВ ШИПОВНИКА

Плоды шиповника (*Fructus Rosae*) являются ценным поливитаминным сырьем и широко используются в медицинской практике в составе многочисленных сборов [1] и для получения ряда известных препаратов: сиропа из плодов шиповника, холосаса, каротоллина, масла шиповника [2,3], экстракта шиповника сухого [4] и др.

В последние годы большое распространение получили биологически активные добавки к пище (БАД), применение которых является одним из альтернативных методов оздоровления населения и профилактики распространенных заболеваний.

На ПЭЗ ВИЛАР также ведутся работы по созданию БАД на основе растительного сырья. В настоящее время внедрены две из них — драже экстракта шиповника и таблетки ви-ларина. Драже экстракта шиповника рекомендованы в качестве общеукрепляющего средства и для восполнения недостаточного поступления витамина С с обычным рационом [5] и с начала их промышленного производства в 1999 г пользуются хорошим спросом у населения, что стимулирует наращивание его выпуска на заводе.

Исходным продуктом для изготовления драже служит сухой экстракт шиповника, который получают путем горячей водной экстракции измельченных плодов растения, последующим упариванием водного извлечения, сепарирования концентрата и сушки последнего на распылительной сушилке [6]. Далее полученный продукт используют для приготовления ядер драже с последующим покрытием их, оболочкой.

Как известно, в плодах шиповника содержатся белковые вещества, крахмал, а также до 14% пектиновых веществ [7], которые извлекаются горячей водой вместе с другими экстрактивными веществами. В результате, в водных извлечениях образуется коллоидная муть, которая очень устойчива; сами водные извлечения получаются мутными и вязкими, плохо поддаются упариванию и осветлению. Длительное упаривание экстракта приводит к разрушению витамина С. Для удаления балластных веществ такого рода в соковой и фармацевтической промышленности обычно применяют центрифугирование, воздействие высоких и

низких температур, оклеивание желатином и таннином, обработку бентонитом и активированным углем, ферментирование и др. [8, 9].

Исследования, проведенные нами в лабораторных условиях показали, что перечисленные выше приемы (за исключением ферментирования) являются малоэффективными или неприемлимыми (обработка сорбентами ведет к потере вкусовых и иных качеств). Рекомендуемая авторами очистка водного концентрата сепарированием [6], также неэффективна: полученный в промышленных условиях концентрат плодов шиповника даже после тройного сепарирования остается мутным и вязким.

Наиболее эффективно разрушение коллоидной системы происходит при действии на нее ферментных препаратов, которые используют для обработки измельченного сырья или водного экстракта [10]. Ферментные препараты разрушают пектины до низкомолекулярных растворимых веществ, при этом нарушается стабильность мути, значительно понижается вязкость экстракта, что положительно сказывается на фильтрации и упаривании, также уменьшается вероятность вторичных помутнений. Ферментализ измельченного сырья предпочтительнее обработки экстракта, так как за счет снижения вязкости жидкой фазы улучшаются диффузия экстрактивных веществ из клеток растения и сокоотдача, т.е. повышается коэффициент массопередачи.

Исследования, проведенные на заводе, показали высокую эффективность применения современных ферментных препаратов при промышленной переработке плодов шиповника. Ферментные препараты, обладающие целлюлазно—пектиназным и пектиназно—целлюлазным действием, использовали на стадии экстракции сырья водой и для обработки водного экстракта, полученного обычным способом [6]. Максимальный расход ферментного препарата при этом составил 0,005 кг/ кг готового продукта. Было установлено, что после трехкратной обработки проферментированного сырья водой в шроте остается не более 5% экстрактивных веществ, в то время как при обычной экстракции выход на стадии экстракции сырья не превышает 85%. В зависимости от используемого ферментного препарата вязкость экстракта падает в 1,3—1,6 раза, а коэффициент светопропускания увеличивается в 5—6 раз. Это позволяет резко интенсифицировать процессы упаривания, сепарирования и сушки. В самом экстракте сохраняется естественный вкус и аромат.

Сравнительный анализ сухого экстракта, полученного из плодов шиповника обычным способом, и после ферментной обработки сырья или водного экстракта, показал, что содержание витамина С в первом способе значительно ниже чем в остальных, в которых даже при переработке некондиционного сырья получается сухой экстракт шиповника с содержанием витамина С 7—8%, что выше нормы по НД—не менее 5% [4]. Для получения сухого экстракта необходимо использовать плоды шиповника с содержанием аскорбиновой кислоты (витамина С) не менее 2%, однако чаще всего на рынок поступает сырье, в котором содержание витамина С ниже нормы. Применение ферментных препаратов при переработке такого сырья позволяет получить продукт, соответствующий НД по содержанию витамина С. Экстракт, полученный с применением ферментных препаратов, и упаренный до содержания сухих веществ 30%, используется на заводе для приготовления таблеточной массы на установке Глатт, что в значительной мере сокращает процесс изготовления ядер драже, в то время как использование такого же концентрата, полученного без применения фермента на установке Глатт невозможно из-за значительной вязкости.

Водный экстракт, полученный с применением ферментов, и упаренный до требуемой концентрации сухих веществ, использовался нами для изготовления известных препаратов шиповника: сиропа из плодов шиповника и холосаса. Анализ полученных препаратов подтвердил их высокое качество и полное соответствие НД. Образцы препаратов заложены на хранение для изучения сроков годности.

Таким образом, применение ферментных препаратов при переработке плодов шиповника позволяет интенсифицировать технологические процессы получения сухого экстракта,

драже экстракта шиповника, сиропов: снизить расход сырья, улучшить условия труда с сохранением биологической ценности и вкусовых достоинств получаемых продуктов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ладынина Е.А., Морозова Р.С. Фитопрепараты, Ленинград, Медицина, 1990, стр. 22 - 24, 28, 29, 6 - 39, 94 - 95, 286 - 288.
2. Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям, Москва, Металлургия, 1990, стр. 156 - 158.
3. Растительные лекарственные средства. Под редакцией Н.П. Максютинной, Киев, Здоровья, 1985, стр. 237 - 239.
4. ФС 42 - 3285 - 96. Экстракт шиповника сухой.
5. ТУ 9168 - 001 - 00481152 - 98. Драже экстракта шиповника.
6. А.с. 2005483 (СССР). Способ получения биологически активной добавки из шиповника для косметических целей. Авторы: Глызин В.И., Мухамеджанова Д.М., Давыдова В.Н. и др. - Оpubл. в Б.И., №1, 1994.
7. Игнатъев Б.Д. Шиповник и его использование., Новосибирск, АН СССР, 1946, стр. 8.
8. Самсонова А.Н. Технология и оборудование сокового производства, Москва, Пищевая промышленность, 1967.
9. Фанг - Юнг. Осветление и фильтрование плодовых соков, Москва, Пищевая промышленность, 1967.
10. Гажа П.А., Шапошник З.С. Использование ферментных препаратов в производстве соков. Кишинев, Экспресс - информация Госплана М ССР, 1987.

O.K. Antonova, L.F. Libizova, L.D. Vechanova, E.V. Val
All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

APPLICATION OF ENZYME DRUGS IN FRUCTUS ROSAE TREATMENT OUT.
An efficiency of Enzyme drugs application in Fructus Rosae treatment out is reported.

АНТОНОВА О.К., РЯБЦЕВА Н.В., ЛИБИЗОВА Л.Ф., ВЕЧКАНОВА Л.Д.
ПЭЗ ВИЛАР, Москва, Россия

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ФИТОХИМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Одним из важнейших условий роста эффективности производства является совершенствование технологических процессов в результате чего снижается себестоимость продукции, в том числе трудозатраты на ее производство, а также нередко значительно повышается выход готового продукта и улучшаются условия труда. Этому направлению на заводе традиционно уделяется большое внимание.

В фитохимическом цехе завода нарабатываются лекарственные вещества (субстанции), которые используются для приготовления готовых лекарственных средств, в том числе жизненно важных, таких как таблетки силимара и беллатаминала. Завод является монополистом на российском рынке по выпуску этих препаратов.

Силимар - высокоэффективный гепатопротектор (аналог карсила, силимарина, силибора и др.) получают из жмыха плодов расторопши пятнистой — *Silybum marianum* L. Действующими веществами препарата являются флаволигнаны [1]. Препарат выпускается в виде таблеток 0,1 г. Силимар разработан в ВИЛАРе, первый промышленный выпуск его осуществлен на заводе в 1995 г. В последующие годы производство силимара имело постоянную тенденцию к росту. В 2000 г завод освоил производство нового препарата "сибектан", в состав которого входит силимар. Сибектан предлагается как гепатопротекторное и желчегонное средство. В связи с этим потребность в силимаре будет возрастать и далее.

Совершенствование технологического процесса в 1996 - 1999 гг. позволило улучшить технико - экономические показатели производства силимара по сравнению с промышленным регламентом (ПР). При сравнительной переработке сырья с одним и тем же содержанием суммы флаволигнанов расход сырья и экстрагента — водного спирта был снижен по сравнению с ПР [2] в 1,2 и 2,7 раза соответственно. Кроме этого, объем упариваемого экстракта был уменьшен в 2 раза и, соответственно, в 2 раза сократилась продолжительность процесса его упаривания. В результате оптимизации технологического процесса себестоимость продукции снизилась на 20,5%, трудозатраты на единицу продукции снизились на 30,7%, а месячная мощность производства препарата на тех же площадях возросла в 1,44 раза при стабильности качества готового продукта, соответствующего действующей ФС.

Вторым важным препаратом, выпускаемым в фитохимическом цехе, является сумма алкалоидов красавки, которая входит в состав таблеток “Беллатаминал”, применяемых в медицинской практике как спазмолитическое, успокаивающее средство [3]. Сумму алкалоидов красавки получают, используя на стадии экстракции травы красавки (*Atropa belladonna* L.) высокотоксичный хлорсодержащий растворитель, при этом растительное сырье предварительно обезжиривали тем же растворителем для исключения образования сильных эмульсий на последующих стадиях. Расходный коэффициент экстрагента по ПР составляет 902,32 кг /700 л /на 1 кг готового продукта [4], а при переработке различных партий сырья достигает 1900 кг/1520 л, т.е. весьма значителен.

В результате исследований, проведенных на заводе, высокотоксичный экстрагент был успешно заменен на водные спирты, при этом качество получаемого готового продукта соответствовало действующей ФС. Это позволило полностью исключить использование токсичного экстрагента на стадии твердофазной экстракции и снизить общий расход его минимум в 29 раз, сократить общую продолжительность экстракции на 3 часа, исключив форэкстракцию сырья; снизить расход серной кислоты в 10,7 раза, сократив количество и продолжительность обработок органической фазы раствором кислоты втрое; уменьшить вредные воздействия токсичных веществ на работающих. Мощность аппаратной схемы при той же загрузке сырья и на тех же площадях выросла на 68%, а трудозатраты на единицу продукции снизились вдвое.

Работы по совершенствованию технологии производства указанных препаратов будут продолжены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ФС 42 - 2340 - 99. Силимар.
2. Промышленный регламент на производство силимара, ВИЛАР, 1998
3. ФС 42-1529-95. Сумма алкалоидов красавки.
4. Промышленный регламент на производство суммы алкалоидов красавки, ВИЛАР, 1990.

O.K. Antonova, N.V. Ryabtseva, L.F. Libizova, L.D. Vechkanova.
All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

IMPROVEMENT OF SILYMAR PRODUCTION AND SUMMA ALKALOIDUM BELLADONNAE

Improvement of technico-economical indexes in production of two drugs Silimar and Summa Alkaloidum Belladonnae was reported, connected with improvement of technological Processes.

АНТОНОВА О.К., ТОХТАБАЕВА Г.М., АНАНЬЕВА А.А.,
ЛИБИЗОВА Л.Ф., ВЕЧКАНОВА Л.Д.

ПЭЗ ВИЛАР, Москва, Россия

ИССЛЕДОВАНИЕ ПО УТОЧНЕНИЮ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА АЛЛАПИНИНА И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПРОИЗВОДСТВА

Аллапинин - высокоэффективное антиаритмическое средство, разработан в Институте химии растительных веществ АН Республики Узбекистан. Получают аллапинин из травы борца белоустого (*Aconitum leucostomum Worosch.*) и корневищ с корнями борца северного (*Aconitum septentrionale Koelle*). Аллапинин представляет собой бромистоводородную соль алкалоида лаппаконитина с сопутствующими алкалоидами [1]. Применяют препарат в виде таблеток 0,025 г и раствора для инъекций 0,5% в ампулах.

Выпуск таблеток аллапинина на заводе был начат в 1995 г. и осуществлялся на покупном аллапинине. Все эти годы завод наращивал выпуск препарата и к 2000 году он вырос в десятки раз по сравнению с 1995 г.

В связи с пересмотром ВФС на аллапинин [1] и таблетки аллапинина [2] на заводе были проведены дополнительные исследования, связанные с уточнением показателей качества препарата и сроков его годности. При выпуске препарата на заводе было установлено, что в ряде случаев аллапинин и таблетки аллапинина, приготовленные из него, не выдерживают сроков хранения, указанных в соответствующих ВФС по разделу: сопутствующие алкалоиды, что также требовало дополнительного изучения.

С учетом этого на заводе в 1996—1999 гг. была проведена наработка аллапинина из травы борца белоустого и корневищ с корнями борца северного, которую осуществили согласно литературным данным [3,4]. В процессе наработки препарата было установлено, что ряд параметров процесса требуют совершенствования и уточнения либо из-за длительности процесса (стадия твердофазной экстракции), либо из-за несоответствия фактическим данным (стадия перекристаллизации технического аллапинина), либо из-за значительных потерь продукта с маточными растворами, определяемых аналитическим путем и выделенным фактически продуктом, либо с целью уточнения хроматографического состава аллапинина, получаемого по основной схеме и из маточных растворов, а также по ряду других причин.

В результате проведенной работы были получены образцы аллапинина, соответствующие НД по всем показателям, а также уточнены ряд показателей и стабильность препарата. Кроме этого, была проведена оптимизация всего технологического процесса, что, на наш взгляд, могло улучшить качество готового продукта.

Технологические исследования показали, что в промышленном производстве целесообразно использовать корневища с корнями борца северного, в котором содержание лаппаконитина в 5—16 раз выше чем в траве борца северного, и, следовательно, производство требует гораздо меньших материальных затрат. Введение нового режима твердофазной экстракции и оптимальных параметров на этой же стадии позволило сократить число экстракции вдвое, а ее продолжительность в 5,6 раза, при этом объем упариваемого экстракта не увеличился. Переработка маточного раствора, полученного после отделения технической суммы алкалоидов, позволила получить дополнительное количество аллапинина, соответствующего НД и повысить выход готового продукта на 10—12%. Уточнены также параметры на стадиях выделения технической суммы алкалоидов, получения бромистоводородной соли лаппаконитина и перекристаллизации технического продукта. Изучена целесообразность переработки маточных растворов на всех стадиях технологического процесса.

Изучение хроматографического состава продуктов, полученных по основной схеме и из различных маточных растворов показало, что их состав отличается. При хроматографировании образцов аллапинина на пластинках “Силуфол УФ-254” в системе бензол-хлороформ-диэтиламин в соотношении 40:10:3 помимо основного пятна лаппаконитина обнаруживаются от одного до четырех пятен сопутствующих алкалоидов. Очевидно, что непостоянство хроматографического состава препарата может быть объяснено как использованием различ-

ного растительного сырья, так и различным соотношением между продуктом, полученным по основной схеме и продуктами, выделенными из различных маточных растворов и присоединенных к основному.

В результате проведенных исследований были уточнены два показателя: сопутствующие алкалоиды и срок годности. В связи с тем, что количество сопутствующих лаппаконитину алкалоидов варьируется от одного до четырех, в НД нормируется максимальное количество пятен сопутствующих алкалоидов до четырех при хроматографировании 100 мкг препарата при отсутствии каких-либо пятен в 0,5 мкг продукта. Срок годности установлен временно 2 года. Изучение стабильности препарата продолжается.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ВФС 42 - 1667 - 95. Аллапинин.
2. ВФС 42 - 1668 - 95. Таблетки аллапинина 0,025 г.
3. 1196004 (СССР). Способ получения лаппаконитина гидробромида.
4. Авторы: Садиков А.З., Шамсутдинов М. - Р.И. Шакиров Т.Т. и др. - Оpubл. в Б.И., № 45, 1985.
5. 2039568 (СССР). Способ получения средства, обладающего антиаритмическим действием. Авторы: Садиков А.З., Арипов Х.Н., Джахангиров Ф.Н. и др. - Оpubл. в Б.И., № 20, 1995.

O.K. Antonova, G.M. Tokhtabaeva, A.A. Ananeva, L.F. Libizova, L.D. Vechkanova.
All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

STUDY ON CORRECTION QUALITY INDEXES OF ALLAPININI AND TECHNOLOGICAL PARAMETERS OF ITS PRODUCTION IN CONNECTION WITH REVISION OF THE PHARMACOPOEA CHAPTERS.

Quality indexes Allapinini and Tabulettae of Allapinini data in their Commercial Production are discussed.

БЕЛАЧЕУ И.А., ЛИБИЗОВА Л.Ф., РАМАННИКОВА Н.М., ИНКИНА Л.Е.

ПЭЗ ВИЛАР, Москва, Россия.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИЙ ГРАНУЛЯЦИИ В ПСЕВДООЖИЖЕННОМ СЛОЕ НА ОСНОВЕ УПАРЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ.

Интенсификация производства лекарственных препаратов из растительных экстрактов предполагает освоение современной высокоэффективной аппаратуры с повышенными технико-экономическими показателями. К таким аппаратам относится сушилка-гранулятор в вихревом слое "GLATT", на базе которой в ПЭЗ ВИЛАР разрабатываются технологии получения таблеточных масс.

Основные технические характеристики установки WSG-UD-30/60Н: объем емкости для материала – 100л; объемный поток воздуха - до 1500 м³/час; максимальная производительность распылительного насоса – 0.5 л/мин.[1]

В предложенной нами технологической схеме упаренные растительные экстракты являются увлажнителями для процессов грануляции в псевдоожиженном слое. Процессы увлажнения идут при оптимально низкой температуре (40-55°C) в течение 1-2.5 часов. На выходе мы получаем готовую к таблетированию таблеточную массу с заданным содержанием влаги и гранулометрическим составом.[2]

В данной работе описываются технологии получения таблеточных масс на примере уже отработанных в ПЭЗ ВИЛАР технологий производства таблеток “Экстракта Сенны” и “Драже Экстракта Шиповника”.

Ранее таблеточные массы для указанных выше препаратов готовили из соответствующих сухих растительных экстрактов. При этом сушка упаренных экстрактов приводила к потере действующих веществ – антраценпроизводных в экстракте сенны и витамина С в экстракте шиповника.

По новой технологии исключается стадия сушки упаренных экстрактов и далее изменяется весь технологический процесс вплоть до стадии таблетирования. В приведенной статье рассматриваются только те стадии технологических процессов, в которых произошли изменения.

Таблетки экстракта сенны сухого 0.3 г по ФС 42-2460-95 – лекарственный препарат, применяемый в медицинской практике в качестве слабительного средства. Основными действующими веществами препарата являются производные антрацена: глюкореин и глюкоалоз-эмодин.[3].

По существовавшей ранее технологии таблетки экстракта сенны получали из сухого экстракта сенны [4] методом формования увлажненной массы с последующей сушкой гранул, их измельчением, просеиванием, опудриванием и таблетированием.[5] При этом сухой экстракт сенны вырабатывали из упаренного экстракта сушкой в полочной вакуумной сушилке в течение 9 ч.

В настоящее время упаренный экстракт сенны [6], минуя процесс сушки, используют в процессе гранулирования в качестве увлажнителя. Весь процесс, начиная от упаренного экстракта и кончая получением таблетной массы, занимает 3 ч. Исключение стадии сушки приводит к увеличению содержания антраценпроизводных в 1.8 раза в упаренном экстракте. В таблице 1 сравниваются две технологии.

Из таблицы 1 видно, что при уменьшении расхода электроэнергии на 4% , трудозатраты на рассматриваемых нами стадиях уменьшаются в 5.3 раза в основном за счет исключения стадии сушки экстракта сенны, что снижает себестоимость продукции на 14%.

Таблица № 1

Приготовление т/м из сухого экстракта сенны			Приготовление т/м из упаренного экстракта сенны		
Техн. стадия и оборудование	Трудозатраты На 1 тыс. уп. Чел/час	Расход эл. кВт/тыс. уп.	Техн. стадия и оборудование	Трудозатраты На 1 тыс. уп. Чел/час	Расход эл. кВт/тыс. уп.
Сушка экстракта /Вакуумная сушилка	1.07	16.7	Подготовка оборудования и инвентаря	0.043	
Измельчение экстракта /Гранулятор	0.12	0.48	Просеивание сырья и приготовление увлажн.	0.043	-
Смешив. и увлажнение /смеситель	0.087	0.095			
Влажная грануляция /Гранулятор	0.06	0.17			
Сушка гранулята /калориф. сушилка	0.06	3.34			
Сухая грануляция /гранулятор	0.06	0.17			
Приготовление т/м /смеситель	0.06	0.025			
ИТОГО	1.6	20.98	Итого	0.3	20.1

Драже экстракта шиповника - биологически активная добавка к пище, которая рекомендована в качестве общеукрепляющего средства и для восполнения недостаточного поступления витамина С с обычным рационом.[7]

По сравнению с экстрактом сенны, сухой экстракт шиповника [8] ранее получали на центробежной распылительной сушилке, имеющей производительность 10 л/ч. Далее таблеточную массу из экстракта шиповника получали по методике, описанной выше для экстракта сенны.

По новой технологии таблеточную массу получают из упаренного экстракта шиповника. Весь процесс, начиная от упаренного экстракта и кончая получением таблетной массы, занимает 3 ч. В таблице 2 сравниваются две технологии.

Из таблицы 2 видно, что по новой технологии получения таблеточной массы из экстракта шиповника происходит экономия трудозатрат в 3.1 раза и экономия электроэнергии на 15.5%. В результате себестоимость продукции снижается на 34%.

Таблица № 2

Приготовление т/м из сухого экстракта шиповника			Приготовление т/м из упаренного экстракта шиповника		
Технологич. стадия и оборудование	Трудозатраты На 1 тыс. уп. Чел/час	Расход эл. кВт/тыс. уп.	Технологич. стадия и оборудование	Трудозатраты На 1 тыс. уп. Чел/час	Расход эл. кВт/тыс.у п.
Сушка экстракта / Распылительная сушилка	3.7	145	Подготовка оборудования и инвентаря	0.33	-
Подготовка оборудования и инвентаря	0.33	-	Просеивание сырья и приготовление увлажн.	0.33	0.4
Просеивание сырья и приготовление увлажн.	0.33	0.73	Приготовление т/м / установка ГЛАТТ	1.33	152.6
Смешив. и увлажнение /смеситель	0.33	0.73	Выгрузка и просеивание	0.33	-
Влажная грануляция /Гранулятор	1.33	5.33			
Сушка гранулята /калориф. сушилка	0.44	25.6			
Сухая грануляция /гранулятор	0.33	2.67			
Приготовление т/м /смеситель	0.55	1.14			
ИТОГО	7.34	181.2	ИТОГО	2.32	153.0

Согласно приведенных выше данных технологий получения таблеточных масс из сухих и упаренных экстрактов можно сделать следующие выводы:

В результате освоения сушилки-гранулятора в вихревом слое GLATT -

1. исключается стадия сушки упаренных экстрактов;
2. увеличивается выход действующих веществ из растительного сырья;
3. сокращаются общие трудозатраты в 3-4 раза;
4. сокращаются пять стадий технологического процесса, включающих увлажнение, две грануляции, сушку и приготовление т/м до одной;
5. значительно улучшаются условия труда и сокращается доля ручного труда;
6. повышается качество таблеточной массы, вследствие чего сокращается поломка пресс-инструмента и улучшается качество таблеток;
7. сокращается время приготовления таблеточных масс и увеличивается производительность труда.

Таким образом, в результате проведенных экспериментальных работ и промышленных наработок растительных препаратов показана экономическая целесообразность перевода технологических процессов на установку с вихревым слоем типа GLATT.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Инструкция по эксплуатации WSG-UD-30/60H, GLAT® GmbH, 1993;
2. Классен П.В., Гришаев И.Г., Шомин И.П., Гранулирование. – М.: Химия, 1991;
3. ФС 42-42-2460-5 на таблетки экстракта сенны сухого 0.3г;
4. ФС 42-2459-86 на экстракт сенны сухой;
5. Промышленный регламент на производство таблеток экстракта сенны сухого, 1988г;
6. ТУ 9362-004-00481152-2000 на экстракт сенны упаренный;
7. ТУ 9168-001-00481152-98 на драже шиповника;
8. ФС 42-3285-96 на экстракт шиповника сухой.

BELACHEW I.A., LIBIZOVA L.F., RAMANNICOVA N.M., INKINA L.E.
All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

WORK OUT OF GRANULATION TECHNOLOGY IN FLUIDIZED LAYER ON THE BASIS OF THICK PLANT EXTRACTS.

In this article we compare granulation technologies by method to get a form of moist mass and by fluidized layer. We recommend to use thick plant extracts as moistening agent for granulation fore

example extract *Cassia acutifolia* and extract *Rosa acicularis*. This way we cancel the drying stage. Finally we compare the economic computation, man power expenses and electrical energy.

Н. В. ШЕПЕЛЕВА, В. Ф. ОХОТНИКОВА.

ПЭЗ ВИЛАР, ВИЛАР, Москва, Россия.

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ГОТОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИЗ СУХИХ ЭКСТРАКТОВ.

Основную группу галеновых препаратов составляют жидкие, сухие и густые экстракты. Несмотря на относительную сложность производства сухих экстрактов, их количество постоянно растёт, поскольку они являются наиболее рациональным видом экстрактов.

Настоящий обзор посвящён особенностям изготовления готовых лекарственных форм из сухих экстрактов. Необходимо отметить, что препараты растительного происхождения, в отличие от синтетических, не вызывают аллергии, не токсичны, благоприятно действуют на организм. Экстракты в своём составе наряду с действующими веществами содержат сопутствующие соединения, что в значительной степени определяет их терапевтический эффект [1]. Сухие экстракты, как правило, гигроскопичны, содержание влаги в них регламентируется от 5 до 10%, комкуются. Стандартизацию сухих экстрактов осуществляют по содержанию действующих веществ, их подлинности, содержанию влаги и, в ряде случаев, по содержанию примесей. Кроме того, в сухих экстрактах определяется содержание органических растворителей, допустимое количество которых указывается в нормативно-технической документации.

Сроки хранения сухих экстрактов составляют более 2-х лет, что выгодно отличает их от жидких и густых экстрактов, и позволяет выпускать на их основе пероральные лекарственные формы с учётом вышеизложенных свойств в виде таблеток, гранул и капсул [2, 3].

При изготовлении пероральных лекарственных форм доза активного вещества определяется фармакологами и составляет для желчегонных препаратов 0,1-0,5 г, для слабительных 0,07-0,3 г [4, 5, 6, 7].

Сухие экстракты, в зависимости от их физико-химических свойств, можно вводить в таблеточную массу различными способами. В большинстве случаев смешивают сухой экстракт или смесь сухих экстрактов со вспомогательными веществами, разрешёнными для использования фармацевтической промышленностью, с последующим увлажнением и грануляцией. Учитывая гигроскопичность сухих экстрактов растительного происхождения и их способность при увлажнении образовывать клейкие массы, не подлежащие гранулированию, рекомендуется сухие экстракты частично вводить в общую таблеточную массу, при

этом большая часть действующего вещества вводится при опудривании сухих гранул [8]. В качестве увлажнителей для процессов грануляции используют растворы картофельного, кукурузного, рисового крахмалов, растворы метилцеллюлозы различных концентраций. При получении драже экстракта шиповника и таблеток экстракта сенны сухого увлажняющим агентом служат водные растворы этих действующих веществ [9].

Возможно также простое смешивание сухого экстракта со вспомогательными компонентами с последующим брикетированием и размолем брикетов. Однако, этот метод экономически не выгоден, так как требует значительных затрат времени [10].

Используя установку для сушки в псевдоожиженном слое Glatt WSG-UD-30\60H для приготовления таблеточных масс, можно значительно сократить производственный цикл и долю ручного труда, уменьшить потери, улучшить технологические характеристики таблеточных масс по всем показателям.

Установка позволяет осуществлять непрерывно весь процесс приготовления таблеточной массы: от смешивания компонентов, увлажнения, сушки до опудривания гранул. Примером является получение таблеточных масс драже экстракта шиповника и экстракта сенны [9, 11]. При этом смесь вспомогательных компонентов увлажняют водными растворами экстрактов, высушивают гранулят до регламентированного значения содержания влаги, затем вводят опудривающую смесь. Данная технология позволяет значительно увеличить производительность труда, снизить трудо- и энергозатраты.

Производство препарата силимар, представляющего собой также сухой экстракт, предполагает традиционную технологию приготовления, состоящую из стадий [12]:

- смешивание сухого экстракта со вспомогательными веществами;
- увлажнение крахмальным клейстером;
- влажное гранулирование с последующей сушкой влажных гранул;
- сухое гранулирование;
- опудривание сухих гранул;
- таблетирование.

Препарат обладает гепатопротекторным действием; сухой экстракт получают из плодов расторопши пятнистой (*Silibum marianum*, L.) – растения, которое издавна используется в зарубежной традиционной медицине для лечения заболеваний печени.

В состав силимара входят флаволигнаны (в том числе силибин и силиданин), а также вещества, не относящиеся к данной группе природных соединений, главным образом, флавоноиды.

Наряду с силимаром ПЭЗ ВИЛАР выпускает ещё одно гепатопротекторное средство. Это таблетки танацехола 0,05 г, покрытые оболочкой.

Танацехол - сухой экстракт, выделенный из цветков пижмы и содержащий сумму флавоноидов и других биологически активных веществ. Особенностью приготовления таблеточной массы танацехола является увлажнение крахмальным клейстером части сухого экстракта, смешанного со вспомогательными веществами. Увлажнённую массу гранулируют, затем её вместе с опудривающей смесью постепенно вводят в оставшийся танацехол и сразу осуществляют таблетирование. Преимуществом данного способа получения таблеток является отсутствие стадии сушки гранулята [8].

Таким образом, получение готовых лекарственных форм для приёма внутрь, содержащих сухие экстракты различного действия, существенно отличается от традиционной технологии, а именно: введением самих действующих веществ на различных стадиях, усовершенствованием стадий приготовления таблеток, использованием современной аппаратуры, что позволяет получать качественную фармацевтическую продукцию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Р. В. Бобылёв, Г. П. Грядунова, Л. А. Иванова и др. – Технология лекарственных форм. - М.: Медицина, 1991. Том 2, с. 237-269.
2. В. И. Литвиненко, Г. В. Оболенцева, Материалы Всесоюзной научной конференции по совершенствованию производства лекарственных и галеновых препаратов, ФАН, Ташкент, 1969, с. 221-222.
3. М. Л. Езерский, Хим.–фарм. журн., 14(7), 54-56 (1970).
4. Государственная фармакопея СССР.-11 изд., - М.: Медицина; 1990, - Т.1 и 2.
5. ФС 42-2460-95. Таблетки экстракта сенны сухого 0,3 г.
6. ФС 42-3881-99. Таблетки силимара 0,1 г.
7. ФС 42-3718-99. Таблетки танацехола 0,05 г, покрытые оболочкой.
8. Промышленный регламент № 64-1800-091-90 на производство таблеток танацехола 0,05.
9. Промышленный регламент № 64-1800-090-88 на производство таблеток экстракта сенны сухого.
10. Актуальные вопросы изыскания и технологии лекарственных средств. – Издание I ММИ им. И. М. Сеченова, 1982, 23-26.
11. ТУ 9168-001-00481152-98. Драже экстракта шиповника.
12. Промышленный регламент № 64-1800-119-94 на производство таблеток силимара, 0,1 г., покрытых оболочкой.

N. V. Shepeleva, V. F. Okhotnikova.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

SOME PECULIARITIES OF READY MADE REMEDIES PRODUCTION FROM DRY EXTRACTS.

Some peculiarities of ready made remedies production for oral administration are discussed. Herbal drugs have definite advantages over synthetic ones. Ready made drugs containing dry extracts of various action are distinguished essentially from that produced by traditional technology, by introducing by biologically active ingredients at different technological steps, by improvement of the step of tablet production, by modern equipment use, which possess to produce quality made production.

БОКАРЕВА С. Ю., ЛИБИЗОВА Л. Ф., ЗВОНКОВА Е. Н., ВЕЧКАНОВА Л. Д., БЫКОВ В.А.

ПЭЗ ВИЛАР, Москва, Россия.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ГЛИКОЗИДОВ ИЗ НАПЕРСТЯНКИ ШЕРСТИСТОЙ

Сердечные гликозиды относятся к числу важнейших фармацевтических препаратов кардиотонического действия. Наиболее эффективными из них признаны очищенные препараты из наперстянки, такие как дигоксин, дигитоксин, целанид [1]. Целанид (ланатозид С) (рис.1) представляет собой один из наиболее известных и хорошо зарекомендовавших себя препаратов.

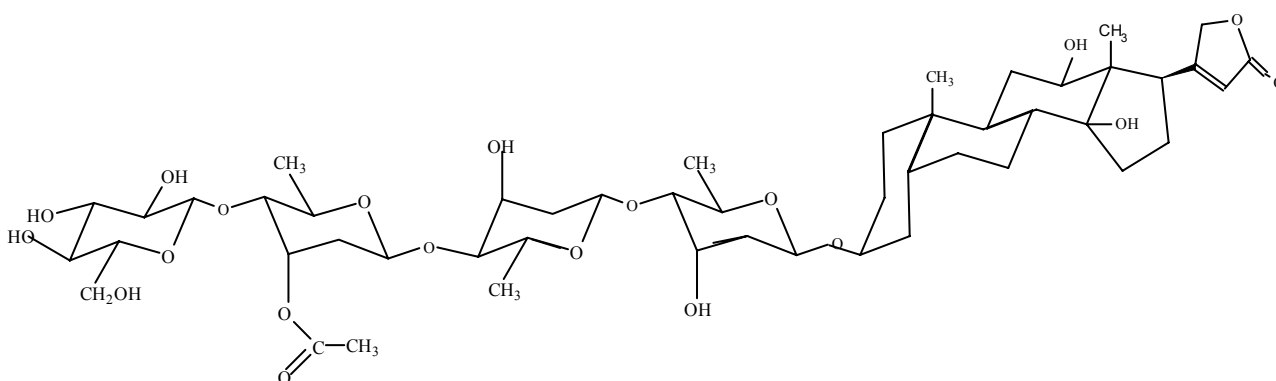


Рис. 1. Ланатозид С.

В настоящее время известен ряд способов получения целанида, из которых наибольшее применение нашли методы выделения сердечного гликозида из растительного сырья. Однако выделение ланатозид С все еще связано с рядом проблем, по этой причине работа по совершенствованию технологии остается актуальной.

На ПЭЗ ВИЛАР проведена работа по выделению суммы гликозидов из наперстянки шерстистой. Сырьё экстрагировали этилацетатом, насыщенным для стабилизации водородного показателя 2,5% водным раствором бикарбоната натрия [2]. Данный экстрагент отличается избирательностью и не способствует ферментативному гидролизу гликозидов [3]. Во время экстракций периодически ведётся рН-контроль экстрагента. Наиболее приемлемым является рН от 6,0 до 7,0, что обеспечивает максимальный выход суммы гликозидов. Это объясняется тем, что снижение рН раствора ниже 5,0 приводит к разрушению гликозидов из-за их гидролиза в кислой среде. Повышение рН более 7,0 обуславливает меньший выход суммы гликозидов в связи с размыканием лактонного кольца и дезацетилированием [4]. Экстракты пропускали через окись алюминия с оптимальным размером частиц и проводили хроматографическую очистку ланатозидов АВС от балластных веществ, таких как флавоноиды, каротиноиды, хлорофиллы, смолы и др. ТСХ-контроль осуществляли на силуфол в системе метанол- этилацетат (1:4), проявитель- пары соляной кислоты [5]. Фракции, содержащие сумму гликозидов объединяли для кристаллизации.

Данный способ получения суммы гликозидов отличается сокращением времени экстракции, проведением её в более мягких условиях; осуществлением процесса очистки хроматографическим методом, исключаяющим стадию осаждения смол с применением более эффективного сорбента и оптимально подобраной системы для элюирования. Такие условия хроматографической очистки и использование удобного метода ТСХ-контроля позволили значительно сократить время элюирования.

Получение суммы гликозидов в данных условиях привело к выделению готового продукта с высоким выходом за счёт уменьшения деструкции гликозидов и сокращения потерь.

По результатам анализа ВЭЖХ содержание ланатозида С в продукте составило 70-80%, что выше содержания ланатозида С в абицине, полученном по технологии, предложенной ранее (60-66%).

Для разделения кристаллической суммы гликозидов существует ряд перспективных методов, наиболее целесообразно проводить хроматографическое разделение на активном угле [6], полиароматических микросферических гелях [7], силикагеле [8]. Необходимо также принять во внимание возможность разделять смесь гликозидов путём отделения ланатозида А на дезактивированном водой силикагеле с последующим противоточным распределением ланатозидов В и С, например с помощью смеси хлороформ-дихлорэтан-метанол-вода (28: 22: 30: 20) [9].

Не менее важной проблемой является поиск и отработка подходящих условий для выделения дигоксина (рис.2). Для его получения помимо стадий экстракции, очистки и разделения, необходима стадия первоначальной ферментации энзимами [3], результатом которой

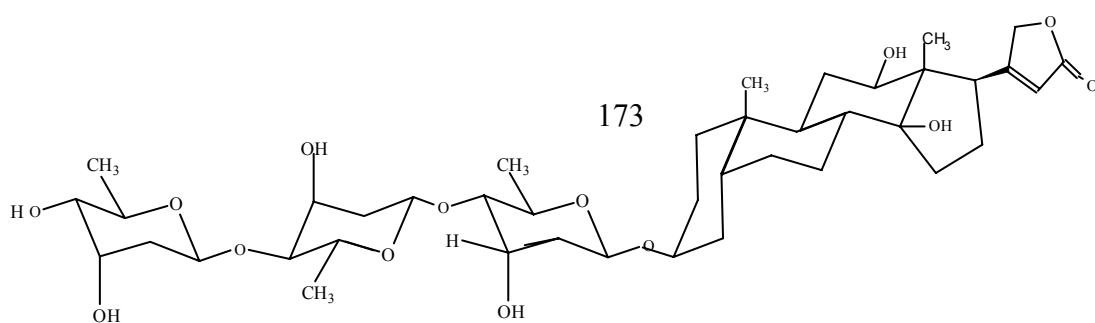


Рис. 2. Дигоксин.

является отщепление ацетильной группы и концевой глюкозы в углеводной части молекулы [10].

ЛИТЕРАТУРА.

1. Регистр лекарственных средств “Энциклопедия лекарств”(2000 г), 7-е издание, М.:РЛС-2000
2. Опытнo-промышленный регламент №39-10-051 на производство целанида, ВИЛР (1982г.)
3. Макаревич И.Ф., Черняев Ю.А., Воробьев М.Е., Евсеева Л.В, Алистренко А.И. Фармацевтический журнал (Киев)(1987 г.), №4, с.71- 72.
4. Патент СССР №1095494 (1982 г.)
5. Matysik G., Markowski W., Soczewinski E., Polak B. (1992) Chromatographia, v.34, p.303-307.
6. Патент ЧССР №142413 (1971 г).
7. Патент ФРГ №3643760 (1988 г.)
8. Патент ЧССР №260701 (1989 г.)
9. Патент ЧССР №231299 (1989 г.)
10. Патент ПНР №140548 (1989 г.)

Bokareva S. Yu., Libizova L. F., Zvonkova E. N., Vechkanova L. D., Bykov V. A.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

PERFECTION OF TECHNOLOGY ON PRODUCTION OF GLYCOSIDES FROM *DIGITALIS LANATA*.

The working out new technology on production of cardiac glycosides from *Digitalis lanata* is carried out. In this paper some details are presented.

ВАЛЬ Е.В., ВЕЧКАНОВА Л.Д., АНТОНОВА О.К., КАНДЫБКА Н.Е.

ПЗЗ ВИЛАР, Москва, Россия

УПАКОВКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ИМИДЖ ПРЕДПРИЯТИЯ

Изобилие зарубежных красочно оформленных лекарственных средств, хлынувших на российский рынок в начале 90-х годов, поставило перед российскими фармацевтическими заводами задачу предложить покупателям продукцию собственного производства, не усту-

пающую зарубежной по своим потребительским характеристикам, с узнаваемым фирменным стилем, с упаковкой, обеспечивающей сохранность продукции и процесс обращения.

С осени 1998 г. вступил в силу Федеральный закон “О лекарственных средствах”, в котором сформулированы требования, предъявляемые к упаковке лекарственных средств, производимых в России [1]. В начале 1999 г. были составлены методические указания по графическому оформлению лекарственных средств, в которых даны соответствующие разъяснения по упаковке [2].

Работа по созданию фирменных упаковок с учетом требований закона и рынка началась на заводе с 1999 г. Завод является унитарным предприятием, он единственный в России специализируется на выпуске препаратов из растительного сырья, поэтому, на наш взгляд, эта тема должна превалировать на упаковке.

Вся продукция завода (а это около 30 наименований) была проанализирована нами на предмет соответствия требованиям закона и НД (ФС, ВФС). Ряд лекарственных средств выпускались заводом без вторичной упаковки, а на имеющихся упаковках маркировка не соответствовала требованиям закона. Кроме этого, упаковка завода имела разное художественное исполнение, не имела узнаваемого фирменного стиля, отличающего ее от продукции других заводов.

За сравнительно короткий период на заводе была проведена большая работа по созданию фирменных упаковок на все лекарственные средства, выпускаемые ранее заводом, в том числе разработаны оригинальные упаковки на препараты и БАД, внедренные в промышленность в 1999—2000 гг. — таблетки гипорамина, виларина, сибектана, драже экстракта шиповника и др. Новая упаковка, как правило, разрабатывалась в комплекте: пачка, этикетка или блистер, бандероль, т.е. имела законченный вид.

Одним из требований закона является разработка инструкций по медицинскому применению препаратов, выпускаемых предприятием. В настоящее время составлены инструкции по медицинскому применению практически всех препаратов, выпускаемых заводом и проводится их экспертиза в Государственном Центре лекарств.

Важным этапом в работе завода является перевод упаковки таблеток из стеклянных банок в блистеры, а мазей в тубы, что соответствует современным тенденциям в развитии упаковки лекарственных средств на рынке, а также позволит улучшить потребительские качества продукции завода и ее сохранность. Указанную работу планируется завершить в 2000 г.

В т.г. заводом были получены свидетельства на товарные знаки ряда препаратов, разработанных в ВИЛАРе: целанид, сангвиритрин, ротокан, танацехол, алпизарин и др., что свидетельствует о высокой и эксклюзивной торговой марке продукции завода и ответственности перед покупателями за ее поддержание. В связи с этим в упаковку препаратов будут внесены соответствующие изменения.

На наш взгляд, в настоящее время упаковка завода уже имеет свой фирменный, узнаваемый стиль, маркировка на ней соответствует НД и Федеральному закону “О лекарственных средствах”. Предстоит большая работа по совершенствованию уже созданных упаковок с учетом требований маркетинга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Федеральный закон “О лекарственных средствах”, Фармацевтический вестник, 1998, №14, стр. 2 - 6.
2. МУ 9467 - 015 - 05749470 - 98. Графическое оформление лекарственных средств. Общие требования, С.-Петербург, 1999.

E.V. Val , L.D. Vechkanova , O. K. Antonova , N.E . Kandybka .
All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

MEDICINAL REMEDY PACKINGS AND ENTERPRISE IMAGE.

There has been reported out Work Packing medicinal Remedies in accordance with Federal Rule “About medicinal Remedies “ .

ГРОМАКОВА А.И., БЫКОВ В.А., ГЛЫЗИН В.И., СОКОЛЬСКАЯ Т.А. , ТАРЕЕВА Н.В.

ВИЛАР, Москва, Россия

КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД ПАТЕНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРЕПАРАТОВ ИЗ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ

В настоящее время в России действует блок законов и нормативных актов по охране объектов интеллектуальной собственности (ИС).

Система промышленной собственности позволяет защищать интересы создателей лекарственных препаратов по крайней мере тремя способами: предоставлением патентной охраны продуктам, способам и регистрацией фирменных наименований.

Обычно биологически активные вещества растений представляют собой индивидуальные вещества либо сумму действующих веществ . Обеспечить патентную защиту созданных на их основе фитопрепаратов, можно только через объект изобретения “способ”.

В России , как и во многих странах, патент, выданный на способ получения какого-либо продукта, защищает и сам продукт, полученный этим способом

(п.3 ст.10 Патентного закона РФ).

Основным документом, регулирующим отношения, возникающие в связи с регистрацией, правовой охраной и использованием товарных знаков, является Закон о товарных знаках. Исходя из п.1 ст.4. владелец ТЗ имеет исключительное право им пользоваться и распоряжаться, а также запрещать его использование другим лицам. Реализация правомочия на использование позволяет применять знак на товарах и/или их упаковке, в рекламе, печатных изданиях, на официальных бланках, вывесках, при демонстрации экспонатов на выставках и ярмарках, проводимых в России. Все это способствует широкому распространению и пропаганде товарного знака и в конечном счете- успешному сбыту товара.

Во Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений был разработан и запатентован способ комплексной переработки плодов расторопши пятнистой. (Патент №2099076).

Для получения патента на изобретение необходимо было доказать, что оно отвечает трем критериям охраноспособности: абсолютная мировая новизна, изобретательский шаг и промышленная применимость.

Соответствие разработанного способа критерию "новизна" заключается в том, что ранее не был известен способ комплексной переработки расторопши пятнистой с получением нескольких препаратов различной фармакологической активности.

В патентной литературе описан способ получения суммы флаволигнанов (препарат "Карсил" гепатопротекторного действия и способ получения масла расторопши пятнистой, которое обладает ранозаживляющей активностью

Целью (задачей) изобретения является комплексная переработка расторопши пятнистой с получением лекарственного средства, обладающего гепатозащитным действием, средства для лечения кожных заболеваний и ожогов, а также белковой кормовой добавки.

Поставленная цель достигается тем, что из плодов расторопши выделяют масло, обладающее ранозаживляющим действием, затем маслом экстрагируют траву ромашки и календулы с получением лекарственного средства, обладающего противовоспалительным и ранозаживляющим действием, жмых, оставшийся после выделения масла, экстрагируют этиловым спиртом при нагревании и перемешивании, затем экстракт концентрируют, концентрат очищают петролейным эфиром и осаждают целевой продукт, обладающий гепатопротекторным действием, раствором соляной кислоты; шрот, образовавшийся в процессе получения сухого экстракта, используют в качестве кормовой добавки для скота.

Жирное масло, которое выделяют из плодов расторопши методом механического прессования, используют как сырьевой источник получения препарата "Камадол".

Предварительное удаление масла облегчает последующую обработку жмыха. Жмых плодов расторопши содержит значительное количество биологически активных веществ флаволигнанов, обладающих гепатозащитным действием и применяемых при острых гепатитах, хронических заболеваниях печени, при циррозе печени (аналоги-"Карсил" Болгария; "Легалон" Югославия; "Силимарин" ФРГ) и значительное количество веществ белковой природы.

При получении препарата **силимар** в сравнении с известным способом получения препарата карсил обезжиривание проводится методом механического прессования без использования органического растворителя, что ускоряет, упрощает и значительно удешевляет

данную стадию и позволяет получить жирное масло для дальнейшего использования в качестве самостоятельного лекарственного средства и композиции. Не требуется дополнительная сушка сырья для удаления циклогексана.

Таким образом, разработанная технологическая схема ,позволяет сократить расходы по использованию агрессивных органических растворителей и отказаться от закупок импортных препаратов.

С использованием масла расторопши в качестве составной части получен новый препарат **камадол** для лечения кожных заболеваний и ожогов; препарат рекомендован Фармакологическим комитетом МЗ к применению в качестве противовоспалительного, ранозаживляющего средства для наружного применения (протокол № 2 от 08.02.96 г.)

Для доказательства критерия “промышленная применимость” приведены примеры осуществления способа получения жмыха и масла плодов , получения препарата силимар из жмыха плодов, а также получения препарата “Камодол”.

Использование сочетания новых технологических приемов позволяет сделать вывод, что разработанный способ соответствует критерию "изобретательский уровень”.

Использование способа получения препарата “Силимар” по сравнению со способом получения препарат “ Карсил” обеспечивает следующие преимущества:

1. Упрощение технологического процесса, заключающееся в том, что исключена стадия обезжиривания сырья циклогексаном с последующей дополнительной сушкой сырья для удаления циклогексана; на стадии экстракции жмыха пожароопасный ацетон заменен на этиловый спирт .

2. Сокращение времени технологического процесса с 48,3 часов до 12 часов. За счет упрощения технологии выход суммы флаволигнанов повышен с 35,8% до 81%.

3. Сокращение общего количества органических растворителей и замена пожароопасных растворителей циклогексана и ацетона на этиловый спирт и петролейный эфир.

4. Дополнительная ценность способа заключается в том, что жирное масло расторопши, полученное путем механического прессования , обладает биологической активностью и используется в качестве составной части лекарственного средства камадол для лечения кожных заболеваний и ожогов.

5. Шрот, полученный в результате отделения основных действующих веществ, используется в качестве белковых добавок для корма скота.

Препарат “**Силимар**” рекомендован Фармакологическим комитетом к применению в медицинской практике (протокол № 13 от 7.09.93 г.) для лечения заболеваний печени и нормализации пищеварительного процесса. (как аналог карсила по составу и фармакологическому действию).

Препарат “Силимар” включен Правительством Москвы в перечень импортозамещающих лекарственных средств (Приказ Правительства Москвы № 534 от 7.12.99 г.)

С целью продвижения препарата “Силимар” на рынок была проведена работа по регистрации его названия в качестве товарного знака. Получено свидетельство № 189612.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авторское свидетельство №63688/83 (Болгария). Метод за извличане на флаволигнани от семена на Даниела Методиева Бочарова, Божидар Тодоров и др.

2.Патент № 2014840 от 30.06.1994 г. Лебедев А.А., Лебедев П.А., Симерзина Л.В.

ВАЛЬ Е.В.

ВИЛАР, Москва, Россия

МОТИВАЦИЯ К ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОМУ ТРУДУ ЧЕРЕЗ ЭКОНОМИЧЕСКИЕ СТИМУЛЫ

Введение. Результаты деятельности предприятия, независимо от формы собственности, и его экономические показатели зависят от заинтересованности каждого работника в высокопроизводительном труде, в основе которого лежит зависимость размеров дохода от фактического личного трудового вклада.

Размеры привычных доходов работника, таких как заработная плата, премия, надбавки, доплаты, а также новых форм доходов: на капитал, выплат, пособий и т.д., в настоящее время слабо зависят от результатов его работы, итогов финансово-хозяйственной деятельности предприятия. Поэтому необходим поиск новых научных подходов в разработке методов стимулирования работника к высокопроизводительному труду.

Понятие заработной платы в жизни одного поколения людей в нашей стране претерпело существенные изменения: от доли работника в общенародном фонде потребления, вы-

деляемого социалистическим государством на оплату труда, до современной трактовки заработной платы как цены рабочей силы. В рыночной экономике стимулирующая функция оплаты труда в соответствии с количеством и качеством затраченного труда работника становится решающей.

1. Анализ отечественного и зарубежного опыта организации оплаты труда. Сегодня в нашей стране сложно назвать существующие системы оплаты труда, которые побуждали бы предприятия и их работников к достижению высоких конечных результатов. Скорее наоборот, в результате слабой взаимосвязи размеров дохода от трудовой деятельности и трудового вклада работника, в распределительных отношениях имеет место уравниловка, а заработная плата не способствует росту производительности труда.

Сложность проблемы и низкая эффективность традиционно действующих систем оплаты труда, основанных на гарантированных тарифных ставках и должностных окладах, многообразие различных видов премий, доплат и надбавок вызвали необходимость поиска новых вариантов организации заработной платы. Наибольшую известность получила система заработной платы в МНТК “Микрохирургия глаза”, построенная на бестарифной паевой основе. Была разработана так называемая шкала “социальной справедливости” (табл. 1), предусматривающая коэффициенты увеличения заработной платы руководителей и специалистов по отношению к минимальной ставке, принятой в МНТК.

Работники в МНТК распределены на бригады по характеру деятельности, причем, каждой бригаде выделяется по нормативу часть фонда оплаты труда в виде процента от общего фонда оплаты труда комплекса [2].

Недостатки данной системы оплаты труда, по нашему мнению, следующие: отсутствуют показатели, которые стимулировали каждого работника комплекса на достижение более высоких общих результатов работы всего коллектива, а не его отдельных частей (бригад); нормативы распределения фонда оплаты труда между бригадами комплекса носят не экономический, а субъективный характер; действующие бригады, а также их члены экономически не заинтересованы в росте общих доходов комплекса, а значит и росте фонда оплаты труда всего комплекса.

Табл. 1

Шкала “социальной справедливости”

Должность	Коэффициент
Руководитель предприятия (генеральный директор)	4,5
Зам. генерального директора	4,0
Руководители отделов	3,5

Врачи	3,0
Медсестры	2,0
Санитарки	1,0

На Вешкинском комбинате торгового оборудования (Московская область) заработная плата работников представляла собой определенную долю фонда оплаты труда хозрасчетного подразделения. Она зависит от трех факторов: квалификационного уровня работника; коэффициента трудового участия (КТУ); отработанного времени. В зависимости от уровня квалификации (в баллах) все работники распределяются по десяти квалификационным группам. Основным элементом в организации оплаты труда является квалификационный уровень.

Недостатки данной системы оплаты труда следующие: у конкретного работника нет стимулов к получению образования, так как специалисты и рабочие имеют одинаковые квалификационные группы; заработная плата работников не зависит от общих результатов деятельности комбината.

В последнее время, особенно на негосударственных предприятиях, бестарифные модели оплаты труда получают все большее распространение и в своей основе применяют нормативно-долевое распределение на основе экспертной оценки результатов труда подразделений и отдельных работников. Достоинство такого подхода в том, что экспертная оценка позволяет оперативно учитывать результативность труда. По этим экспертным оценкам по шкале определяется коэффициент трудового вклада.

Недостатки системы оплаты по КТВ: по каждому направлению деятельности нужно в организации иметь 3-5 экспертов, чтобы был какой-то элемент объективности при усреднении оценок; для малочисленных организаций подобная система определения размеров заработной платы неприменима в силу влияния фактора субъективизма.

Разновидностью бестарифной системы оплаты труда, является модель, применяемая в старательных артелях, строительных и промышленных кооперативах. Конкретному работнику коэффициент устанавливается решением общего собрания артели, при этом учитывается образование, стаж работы, деловые качества и т.д. Важно отметить, что оплата труда служащих в артели старателей зависит от должности. Другая важная особенность, что предусматривается жесткая материальная ответственность за нарушение трудовой и технологической дисциплины, так за невыполнение суточного задания по вине работника или распоряжения руководства, за прогул и т.д. сумма трудностей может быть снижена за месяц до 50%.

Рассмотренные варианты организации труда имеют свои преимущества. Они относительно просты, способны заинтересовать работников и их коллективы в достижении конечных результатов, в реализации внутренних резервов. Системы в целом отвечают условиям самофинансирования и рыночной экономики.

Однако все рассмотренные системы оплаты труда имеют общие недостатки:

1. При расчете заработной платы используются базовые показатели со всеми их недостатками. При построении модели оплаты труда на основе базовых показателей и от достигнутого не учитываются в полной мере фактические затраты и реальный результат работника.

2. Системы оплаты труда учитывают лишь потенциальные возможности работника, а не его фактический трудовой вклад в общие результаты работы трудового коллектива.

3. Сохраняются различные виды премий, доплат и надбавок, которые слабо увязаны с конкретным трудовым вкладом работника, и не способствуют более тесному соответствию меры труда мере оплаты.

Все это вызывает, особенно в условиях рыночных отношений, необходимость поиска новых подходов к организации оплаты труда с учетом не только отечественного, но и мирового опыта.

Подходя к проблеме организации оплаты труда в нашей стране в условиях рыночных отношений с позиций конкретно-исторического анализа, правильно говорить о сочетании и дополнении отечественного и зарубежного опыта. Например, попытки перенести в Японию и внедрить чисто американские методы закончились неудачей. Из всего многообразия зарубежного опыта организации оплаты труда можно условно выделить: американский, японский и западноевропейский.

Серьезное значение в японской практике придается выплатам в конце года или два раза в год в виде бонусов по результатам работы каждого работника. Размер выплат достигает до четырех месячных зарплат [1].

Из западного опыта следует выделить дифференциацию оплаты труда специалистов и существенное увеличение повременной оплаты труда вместо сдельной. Следует отметить высокий уровень оплаты труда американских главных менеджеров. В организации стимулирования инженерно-технических работников, специалистов целесообразно, по-видимому, использовать опыт США, который позволяет заинтересовать талантливых и перспективных инженеров в максимальной реализации своих интеллектуальных способностей, разработке и внедрению достижений научно-технического прогресса. Например: в США средненедельная заработная плата инженеров в два раза выше заработной платы всех работников массовых

профессий. Особенно стимулируется изобретательская и рационализаторская деятельность, когда премии нередко составляют 10-15% от годовой прибыли, полученной от внедрения.

Особые системы оплаты труда применяются в Швеции, где профсоюзы проводят политику “солидарной заработной платы”. Так, самые низкооплачиваемые рабочие получали только в два раза меньше, чем самые высокооплачиваемые. Ни в одной развитой стране мира нет такой малой дифференциации оплаты труда, целесообразность которой в последнее время подвергается большому сомнению.

Большое значение в странах с развитой рыночной экономикой придается оплате труда в зависимости от квалификации работника, результативности его труда, а в ряде стран — от возраста, стажа, условий труда и других факторов. Опыт этих стран показывает, что дифференциацию заработной платы целесообразно осуществлять на основе единой тарифной сетки для рабочих, специалистов и служащих.

Для оценки квалификации работников уже недостаточно таких критериев, как образование, профессиональный опыт, инициатива, стаж. Их необходимо дополнить принципиально новыми: владение смежными специальностями, решение производственных задач, самостоятельность в принятии решения, компетентность и широта знаний, навыки общения с людьми, умение работать в коллективе [5].

Основной метод оценки индивидуальных показателей работника — ежегодная аттестация, которая имеет целью определение профессиональной компетентности работников, выявление их потребностей в профессиональном обучении, а также пожеланий по поводу профессионального продвижения на ближайшее время.

Результаты производственной деятельности коллективов предприятий в значительной степени зависят от того, как раскрывается творческий потенциал каждого работника. В странах с развитой рыночной экономики уже поняли, чтобы заинтересовать наемных работников в конечных результатах деятельности предприятия, собственник, предприниматель должны делиться с ними частью прибыли. Участие в прибылях способствует вовлечению работников в процесс принятия решений, обеспечивающих развитие производства, и справедливое распределение доходов. В результате усиливается мотивация работников на достижение целей фирмы [3].

2. Теоретическое обоснование перехода к системе оплаты труда на основе экономических показателей. Стремление хозяйственных руководителей и специалистов многих предприятий в нашей стране отказаться от использования тарифной системы, гарантированных тарифных ставок и должностных окладов объясняется следующими обстоятельствами:

1. Превышение меры труда, за которую выплачивается ставка или оклад, либо не предполагает увеличения и не сопровождается ростом его оплаты, либо это увеличение не-

значительно и слабо ощутимо для работников. При этом часто срабатывает принцип: зачем работать больше и лучше, если оплата труда будет не больше установленной ставки или оклада. Премии, надбавки и доплаты принципиально не меняют этого положения.

2. Действующий порядок начисления ставок и окладов, при которых мера оплаты опережает меру труда (сначала устанавливается гарантированный размер ставки или оклада, а уж затем “под него” ожидается адекватный трудовой вклад), допускает возможность их выплаты без достижения работниками соответствующих выплатам результатов. Здесь у работника возникают несколько иные по сравнению с первым случаем, соображения: стоит ли достигать даже требуемых результатов, определенных тарифной системой, когда и без этого выдается, как минимум, гарантированная ставка или оклад. Именно в этом заключается одна из причин сознательного недоиспользования работниками своих физических и интеллектуальных способностей, о чем свидетельствуют результаты социологических исследований в Производственно-экспериментальном заводе Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений (ПЭЗ ВИЛАР), на котором без изменений длительное время действовала тарифно-премиальная система (приложение 1). На вопрос: “В полной ли мере Вы сейчас реализуете свои способности, профессиональные навыки на работе?” Положительно ответили: руководители — 55%; специалисты — 46%; рабочие — 78%.

3. Казалось бы, широко распространенная и давно используемая тарифно-премиальная система оплаты труда, должна быть понятна работникам. В тоже время проведенные опросы этого не подтверждают. Большинство работников не понимают как, за какие результаты, по каким критериям им выплачивается заработная плата. На вопрос: “Хорошо ли Вы знаете особенности и принципы существующей тарифно-премиальной системы оплаты труда?” отрицательно ответили: руководители — 39%; специалисты — 54%; рабочие — 60% [4].

4. Установление тарифных ставок и окладов в большей мере соответствует не экономическим, а административно-командным методам хозяйствования.

В рыночной экономике **нет экономической основы для применения гарантированных тарифов и должностных окладов**, так как фонд оплаты труда предприятия становится динамичным и подвержен рыночным колебаниям. Поэтому несправедливо негарантированный, изменяющийся во времени фонд оплаты труда распределять между работниками по гарантированным стабильным ставкам и окладам. Это равносильно преждевременному точному распределению еще не созданного продукта.

Приведенные аргументы, свидетельствующие о неэффективности тарифных ставок и должностных окладов, подтверждают необходимость перехода на другие системы оплаты

труда, основанные на вовлечении работника, специалиста и руководителя в механизмы рыночных отношений, путем установления зависимости их заработной платы от экономических результатов деятельности, с учетом мотивации и согласования личных, коллективных и общественных целей [6].

В рыночных условиях заработная плата должна быть непосредственно связана с источником ее образования. Для производственных предприятий такими источниками могут быть: доход от реализации продукции и полученная прибыль.

Итак, имеется два основных источника заработной платы: доход и прибыль. Но доход и прибыль динамические показатели, значит и заработная плата должна быть динамичной, как со знаком плюс, так и со знаком минус. Отсюда в показатели, от которых зависит заработная плата, должны быть заложены **динамика роста объема продаж в стоимостном выражении** (доход), **увеличение размера прибыли** по сравнению с предыдущим периодом и **снижение издержек производства** (как одна из составляющих балансовой прибыли).

Нет необходимости доказывать, что экономическая эффективность любой человеческой деятельности зависит от тех целей, которые выдвигают перед собой руководители организаций, отдельные личности и коллективы в целом. В свою очередь, в основе выдвигаемых целей стоят потребности, интересы и стимулы субъектов трудовой деятельности.

В России в настоящее время в мотивации доминируют экономические стимулы, поскольку поведение людей определяется, в основном, удовлетворением их первичных потребностей (продукты питания, обеспечение условий проживания и т.д.). В развитых странах эти потребности играют второстепенную роль в мотивации, так как они уже удовлетворены, и на первый план выходят потребности высших уровней (уважение, престиж, продвижение по служебной лестнице, самоуважение) [7].

В дополнение к сказанному следует отметить место интересов: личных, коллективных и общественных в степени элементов мотивации. Абсолютизация в недавнем прошлом общественных интересов привела к недооценке коллективных и личных интересов. В качестве примера конкретных интересов предприятия, выпускающего лекарственные препараты по возрастающей значимости могут быть следующие интересы:

общественные — выпуск качественных, эффективных и доступных по цене лекарств;

коллективные — престиж предприятия, повышение конкурентноспособности, решение социальных проблем коллектива, экологических проблем, улучшение условий труда и его безопасности;

личные — положительная динамика роста личных доходов работника, уважение в коллективе, возможность продвижения по службе и повышение квалификации, удовлетворение духовных запросов.

В рыночных условиях эффективность деятельности **предприятия** оценивается объемом продаж (доходом), полученной прибылью и уменьшением затрат в процессе производства. Для **коллектива** отдела, цеха, участка эта эффективность оценивается как выполнение производственного плана, повышение производительности труда, экономия материалов, сырья, энергоресурсов. Для **работника** оценивается трудовая и производственная дисциплина, степень овладения несколькими профессиями, технологическими навыками и приемами, компьютером и т.д.

Проблема состоит во взаимоувязке этих интересов через заработную плату работника. Отметим, что решение этой проблемы достаточно системно обеспечивается в бестарифной модели оплаты труда через критерии, показатели и соотношения в оплате труда работников разных квалификационных групп. Разработка критериев и показателей для каждого хозяйствующего субъекта должна быть своя и требует дифференцированного подхода.

Любой процесс в силу диалектического единства противоположностей имеет положительные и отрицательные стороны. Оценка результатов труда работника через достигнутые экономические показатели ведет к неизбежной дифференциации заработной платы и к росту потенциальной конфликтности, психологического напряжения внутри коллектива.

3. Система оплаты труда на основе экономических показателей. На основе использования наиболее перспективных идей, отечественного и зарубежного опыта организации систем материального стимулирования применительно к условиям развития рыночных отношений, нами была разработана и внедрена на ПЭЗ ВИЛАР система оплаты труда на основе экономических показателей (СОТ-ЭП). В нашей стране методология бестарифных систем оплаты труда была разработана доктором экономических наук, профессором Н.А.Волгиным. СОТ-ЭП учитывает принцип долевого распределения фонда оплаты труда между работниками. Чтобы учесть соотношения в оплате труда в зависимости от трудового вклада (должности, квалификации, ответственности) разработана “Сетка соотношений в оплате труда работников разных квалифицированных групп ПЭЗ ВИЛАР”. Разработка сетки потребовала решения следующих задач:

1. Определение наиболее обобщающих и характерных для фармацевтического предприятия категорий работников. В то же время, работников не связанных непосредственно с производственным процессом (дворники, уборщики, контролеры охраны, сторожа) целесообразно перевести на срочные трудовые контракты.

2. Определение числа квалификационных групп и размеров соотношений внутри группы. Нет твердых наработок по этому вопросу. Западные ученые считают, что в одной квалификационной группе только 20% обладают выдающимися для данной группы способностями. Академик Н.Амосов считает, что потенциал родственных категорий работников, например, специалистов, их диапазон различий по набору потребностей и силе характера соотносится как 1:3, а именно, среди всех специалистов наиболее одаренные, квалифицированные, добросовестные, ответственные могут показать результаты в 3 раза больше (лучше) по сравнению с минимальным результатом других.

Если на предприятии по классической классификации выделяются рабочие, служащие, специалисты и руководители, а за основу принять соотношения в оплате труда работников каждой категории 1:3, то разрыв между крайними группами составит 1:9.

В предложенной СОТ-ЭП учитывается особенность фармацевтического предприятия, где доля служащих очень мала, отсюда не имело смысла выделять эту категорию, поэтому служащие распределялись среди специалистов и руководителей. В результате получается следующее соотношение между квалификационными группами:



Однако, совсем необязательно, да и недостаточно обоснованно соотношение работников в оплате труда каждой последующей категории начинать строго с максимального значения соотношения предыдущей категории: специалистов с 5-ой, руководителей с 7-ой. Более реальным нам представляется перекрытие соотношений, т.е. начало соотношения следующей категории работников находится в диапазоне предыдущей категории. Например, в СОТ-ЭТ оно выглядит так:



Составление сетки соотношений в оплате труда работников разных квалификационных групп — это творческий процесс, который должен учитывать местные условия и особенности конкретного предприятия.

Чрезмерно большой разрыв соотношений в оплате труда разных квалификационных групп работников может обусловить необоснованно высокую дифференциацию в размерах их заработка. В СОТ-ЭТ принято максимальное соотношение в 1:4 — заработок рабочего низшей квалификации к зарплате директора.

Для каждого работника предприятия от директора до рабочего определяются ежемесячные индивидуальные коэффициенты K_i , которым эквивалентны доли работников в фонде оплаты труда предприятия в данном месяце. Для определения этой доли используется следующая формула расчета размеров заработной платы:

$$З_{п_i} = \frac{K_i}{\sum_{i=1}^n K_i} \times \text{ФОТ}_{\text{мес.}}$$

где $З_{п_i}$ — размер заработной платы i -го работника;

K_i — индивидуальный коэффициент i -го работника в данном месяце;

n — общая численность работников предприятия;

$\text{ФОТ}_{\text{мес.}}$ — фонд оплаты труда предприятия в данном месяце.

Соотношения в оплате труда работников различных категорий (K_i) не фиксируется, а ежемесячно может изменяться в пределах “вилки” в зависимости от фактического трудового вклада работника (выполнения задания, количества и качества труда, его инициативы и других условий). Для конкретного работника итоговый месячный коэффициент K_i получается как сумма конкретных “положительных” показателей с вычитанием суммы “отрицательных” показателей. Конкретные численные значения показателей, влияющих на итоговый коэффициент K_i работников различных квалификационных групп определяются и фиксируются на длительный период на основе экспертных оценок.

Подчеркнем, что диапазон коэффициентов внутри квалификационной группы и разрыв между крайними значениями соотношений зависит от способностей трудового коллектива и специфики предприятия, объема и вида выпускаемой продукции, его технического оснащения, квалификации кадров, стабильности работы предприятия, финансового положения, т.е. для каждого предприятия будут своими.

Выводы: 1. Разработанная и внедренная система оплаты труда на основе экономических показателей имеет следующие достоинства:

— наглядность: формализованная численная оценка качества и количества труда;

— простота: критерии, показатели, условия и методики определения коэффициентов просты и понятны, каждому работнику выдается памятка с примером расчета его заработка;

— объективность: так как большинство показателей формируется на основе экономических расчетов, производимых службами завода, то на величину заработка работника не влияют межличностные отношения как между руководителем и работником, так и между самими работниками;

— динамизм: все экономические показатели заставляют каждого работника добиваться их положительной динамики;

— ожидание положительного результата: работник направляет свои усилия на достижение какой-либо цели только тогда, когда он уверен в высокой степени вероятности удовлетворения за этот счет своих потребностей.

2. Внедрению СОТ-ЭП обязательно должна предшествовать аттестация всего персонала с целью определения профессиональной компетентности работников, выявления их потребностей в профессиональном обучении, а также пожеланий по поводу профессионального продвижения на ближайшее время. Для повышения объективности аттестации автором была разработана пофакторная модель оценки, при которой деловые и личные качества аттестуемого работника должны оцениваться по набору факторов по пятибалльной шкале. Основными факторами являются: компетентность, качество работы, инициативность, способность самостоятельно принимать решения, быстрота выполнения работы, отношения в коллективе, способность руководить подчиненными.

3. Обоснован выбор крайних соотношений в сетке, определяющих разрыв между минимальной и максимальной оплатой труда на заводе, от которого зависит не только действенность организации оплаты труда, но и микроклимат в коллективе. За образец взят японский опыт соотношений между заработком директора и рабочим низшей квалификации, которое составило примерно 4:1.

4. СОТ-ЭП гибкая система, ведь критерии и показатели с течением времени могут официально изменяться, корректироваться, какие-то исключаться, как потерявшие актуальность, а какие-то вноситься, когда возникает в этом потребность. В этом смысле, после внедрения, СОТ-ЭП становится общим делом, которое творчески может совершенствовать всем коллективом.

5. В разработанной системе каждый работник сам сможет легко проверить правильность начисления ему заработка. Все это способствует стремлению работника к аналитической работе, расчетам возможных размеров своей заработной платы, достижению максимальных результатов в трудовой деятельности.

6. В такой системе организации заработной платы работника уже материально не выгодно “отсиживаться” на работе и ждать окончания смены. Тем самым на практике может

обеспечиваться органическое сочетание коллективного и личного интересов, интересов предприятия и каждого работника.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волгин Н.А. Японский опыт решения экономических и социально-трудовых проблем. — М.: ОАО “Изд-во “Экономика”, 1999.
2. Волгин Н.А., Плакся В.Н., Цювх С.А. Стимулирование производительного труда. — Брянск, Издательская группа “Прогресс”, 1995.
3. Дорофеев В.И. Фармацевтическая промышленность России в условиях переходного периода. — М.: “Медицина”, 1995.
4. Валь Е.В. Формирование системы оплаты труда на основе экономических показателей. — М.: Изд-во “Прометей”, 1999.
5. Фаткин Л.В., Петросян Д.С. Человек в системе менеджмента. — М.: РЭА, 18993.
6. Сантлайн Т. и др. Управление по результатам. — М.: Прогресс, 1993.
7. Актуальные проблемы усиления социальной направленности экономики России (вопросы теории и практики). Под ред. Волгина Н.А., РАГС при Президенте РФ, 1999.

E.V. VAL'

All-Russian research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

MOTIVATION OF HIGH RATE PRODUCTIVITY VIA ECONOMICAL STIMULATION.

Systems of labour painment in Russia, USA, Japan and European Countries, both positive and negative characteristics, are discussed. There is made a conclusion that in the modern market conditions monthly salary or tariff could not been fixed because of the labour painment undergoes to dynamic influence. A project and clear system of labour painment, depended on economical indexes of enterprise, department or the worker himself, were proposed.

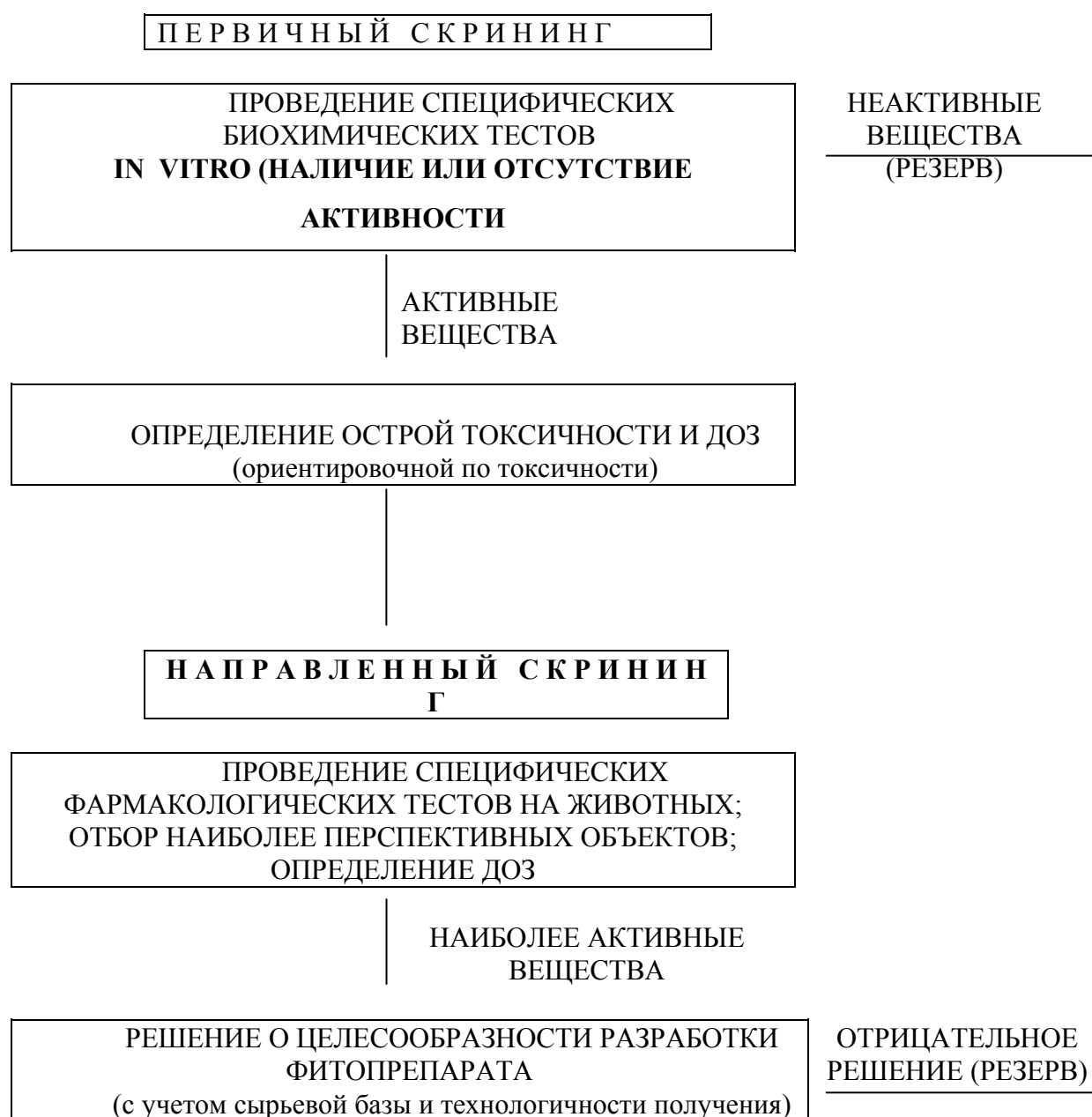
Раздел 2.
Экспериментальные
и клинические исследования биологически активных веществ и фитопрепаратов

БЫКОВ В.А., КОЛХИР В.К., ВИЧКАНОВА С.А., СОКОЛЬСКАЯ Т.А., КРУТИКОВА Н.М.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗРАБОТКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Осуществление систематического и комплексного поиска новых биологически активных веществ из растительного сырья и разработка на их основе лекарственных препаратов растительного происхождения проводится коллективами медико-биологических и химико-технологических подразделений института. Принципиальная схема разработки препарата содержит несколько этапов исследований (Рис.1).

Рис. 1. СКРИНИНГ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ (БАВ) ИЗ РАСТЕНИЙ
(СХЕМА)



ПОЛОЖИТЕЛЬНОЕ РЕШЕНИЕ

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ И
ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СОГЛАСНО
РЕКОМЕНДАЦИЯМ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО
КОМИТЕТА МЗ РФ

ПОДГОТОВКА МАТЕРИАЛОВ ПО ДОКЛИНИЧЕСКОМУ
ИЗУЧЕНИЮ ФИТОПРЕПАРАТА ДЛЯ ПЕРЕДАЧИ В
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ЦЕНТР ДОКЛИНИЧЕСКОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ
ЭКСПЕРТИЗЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ МЗ РФ С ЦЕЛЬЮ
ПОЛУЧЕНИЯ РАЗРЕШЕНИЯ НА ПРОВЕДЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ
ИСПЫТАНИЙ

Первый этап работы включает в себя выделение биологически активных компонентов из растительного сырья и первичную оценку их активности, включая биохимический скрининг. Программа биохимического скрининга была разработана в 1994-95 гг. на базе Отдела медицины и НИЦ Биомедицинских технологий и, в настоящее время, является эффективным инструментом для поиска новых перспективных объектов с наименьшими затратами времени, материалов и животных.

На втором этапе осуществляется разработка лекарственного препарата на основе активной субстанции или активного растительного сырья (сборы), проведение фармакологических, химиотерапевтических и токсикологических исследований, разработка рациональной лекарственной формы и нормативных документов.

Существенным этапом, характеризующим эффективность работы поисковых подразделений института, является оценка всех подготовленных материалов и образцов разработанных препаратов в организациях Минздрава России, таких как: Государственное учреждение науки «Научный Центр экспертизы и государственного контроля лекарственных средств» (ГУН НЦЭ и ГКЛС МЗ РФ), входящие в его состав Институт доклинической и клинической экспертизы лекарств (ИДКЭЛ) и Государственный научно-исследовательский институт стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А.Тарасевича, Фармакологический и Фармакопейный государственные комитеты и др. Этот этап работы включает контроль за согласованностью, грамотным составлением и оформлением документов, своевременной наработкой образцов препарата и т.д.

Особую важность на конечном этапе разработки новых лекарственных средств представляют их клинические исследования переносимости и эффективности на человеке, как

для углубления фармакологических знаний по каждому лечебному средству, так и с целью последующего рационального его применения. Организацию и проведение контроля за ходом исследования эффективности и безопасности препаратов, созданных институтом, в клинических учреждениях осуществляют сотрудники группы клинических исследований Отдела медицины. Этот этап работы включает: обеспечение клиник комплектом документов и препаратом в лекарственных формах, необходимых для клинических испытаний; осуществление контроля за соответствием проводимых исследований утвержденному протоколу (программе) их клинического изучения; составление, оформление и согласование с клиническими учреждениями проектов инструкций по медицинскому применению препаратов. Конечным показателем работы института является Приказ МЗ РФ на разрешение медицинского применения, выпуск, и регистрацию препарата и его лекарственных форм.

Новым для ВИЛАР'а является тот факт, что в последнее время институт является единственным учреждением, проводящим работу по расширению номенклатуры лекарственного растительного сырья. Одно из принципиальных направлений деятельности института - комплексная переработка и использование лекарственного растительного сырья (например, комплексная программа по переработке плодов расторопши). ВИЛАР является базовой организацией по работе с лекарственным растительным сырьем, практически вся документация из различных учреждений России поступает в Отдел стандартизации института. На базе института, как признание его заслуг в области стандартизации растительного сырья и продуктов растительного происхождения, Минздрав России аккредитовал Испытательный Центр и выдал Аттестат аккредитации контрольно-аналитической лаборатории и Аттестат аккредитации органа по сертификации сырья растительного, животного и биотехнологического происхождения, продуктов их переработки и химико-фармацевтической продукции ВИЛАР.

Всего за 70 лет институтом разработано более 100 препаратов, из них только за последние 30 лет зарегистрированы и внедрены в медицинскую практику 71 лекарственное средство и 2 БАД, созданных на основе растительного сырья и предложенных для медицинского применения в виде 94 лекарственных форм (табл.1).

Растительные препараты разрабатываются институтом на современном уровне, не уступают импортным аналогам по эффективности, безопасности, часто имеют ряд преимуществ, в том числе, что очень важно, более доступны по цене.

**ИТОГИ РАЗРАБОТКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ
ФОРМ НА ИХ ОСНОВЕ В ВИЛАРе В 1990-2000 гг.**

НЕЙРОТРОПНЫЕ	ГАСТРО- И ГЕПАТОПРОТЕКТОРЫ, РЕГУЛЯТОРЫ ЖКТ	АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ, ПРОТИВОГРИБКОВЫЕ ПРОТИВОВИРУСНЫЕ
ЭЛЕУТЕРОКОКК - 1992* (сухой экстракт) АБЕРГИН - 1993* ВАЛЕРАН – 1993* ПАТРИМИН – 1994* МЕЛИССА (трава) – 1996*	СИЛИМАР – 1994* СИБЕКТАН – 1997* КАЛАНХИН - 1998* БЕССМЕРТНИК – 1991** ДРОФИПИН – 1991** ФЕПОЛМАХИН – 1992**	ЭВКАЛИМИН – 1990*, 1991* 1999** ФЛАКОЗИД – 1990*, 1993* АЛПИЗАРИН – 1991*, 1992* ХЕЛЕПИН Д – 1994*, 1999* АНМАРИН – 1990*, 1995* ГИПОРАМИН – 1998*, 1999** САНГВИРИТРИН – 1998** (кишечнорастворимые табл.)
СЕРДЕЧНО- СОСУДИСТЫЕ, АНТИОКСИДАНТЫ	ПРОТИВО- ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ, РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИЕ, БРОНХОЛИТИКИ	РЕГУЛЯТОРЫ ФУНКЦИЙ МОЧЕПОЛОВОЙ СФЕРЫ
ДИКВЕРТИН – 1996* КАСМИН (сбор) – 1996* ДИГИДРОЭРГОКРИ-СТИН – 1999* РОЛЕКРАМИН (сбор) – 1992**	ЭЛЕКАСОЛ (сбор) – 1990* РОМАШКА (трава) – 1994* КАМАДОЛ – 1996* ОТХАРКИВАЮЩИЙ СБОР - 1996* АЗОКАН – 1994**	БРУСНИВЕР (сбор) – 1992* ЭРВА (трава) – 1992* БЕКВОРИН (сбор) – 1996* БЕРЕЗА (лист) – 1996*
ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ	ВИТАМИНО- СОДЕРЖАЩИЕ ПРЕПАРАТЫ	БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ДОБАВКИ
ЭСТИФАН - 1994*	ЭКСТРАКТ ШИПОВНИКА СУХОГО (гранулы)- 1993*	ВИЛАРИН - 1999* ДРАЖЕ ЭКСТРАКТА ШИПОВНИКА СУХОГО - 1999*

*) - годы получения приказов МЗ РФ на медицинское применение и
регистрацию препарата и различных лекарственных форм на его основе

**) – год получения рекомендации ФГК МЗ РФ к разрешению медицинского
применения

Так, противовирусный препарат «Алпизарин» применяют у взрослых и детей в качестве противовирусного средства при острых и рецидивирующих формах простого герпеса экстрагенитальной и генитальной локализации, герпетической экземе Капоши, цитомегалови-

русной инфекции, вирусных заболеваниях слизистой оболочки полости рта, опоясывающем лишае, ветряной оспе. Терапевтический эффект алпизарина наиболее выражен при его назначении в начальном периоде заболевания или рецидива. Курс лечения от 3-5 дней до 3-4 недель, в зависимости от формы и тяжести заболевания. По сравнению с зарубежным препаратом «Ацикловир» (Зовиракс, Виролекс) имеет более широкий спектр противовирусной активности, оказывая ингибирующее действие, помимо *Herpes simplex* и *Varicella zoster*, на цитомегаловирусы и ВИЧ-инфекцию, обладает противомикробными свойствами, в том числе в отношении микобактерий туберкулеза, не вызывает побочных явлений, характерных для ацикловира, и, что очень важно, к алпизарину, даже при его длительном применении, не развивается резистентности вирусов. Для алпизарина показана также способность индуцировать продукцию гамма-интерферона в клетках крови, а также иммуностимулирующий эффект в отношении клеточного и гуморального иммунитета, наличие противовоспалительных свойств. Для алпизарина установлена хорошая переносимость у взрослых и детей и отсутствие побочных явлений, встречающихся при приеме ацикловира (тошнота, понос, головная боль, аллергические реакции). Эффективная суточная доза алпизарина более низкая, чем у ацикловира (алпизарин – 0,3-0,8 г; ацикловир – 1-4 г).

Противогрибковый препарат «Анмарин» (в лекарственных формах 1% линимент и 0,25% раствор) применяют у детей и взрослых, в том числе у людей пожилого и старческого возраста, для лечения дерматофитий гладкой кожи (рубромфития, микроспория, трихофития, отрубевидный лишай), поверхностных форм кандидоза кожи, ногтей и слизистых оболочек, а также кожных заболеваний: ладонно-подошвенный кератоз, себорея волосистой части головы, псориаз, очаговая алопеция и др. По спектру антифунгальной активности и клиническим показаниям, касающимся грибковых заболеваний кожи, близок к 1% крему «Ламизил». Однако, в отличие от ламизила, анмарин эффективен при лечении очаговой алопеции и себореи волосистой части головы, оказывает антибактериальный эффект. При использовании линимента или раствора анмарина отсутствуют какие-либо побочные эффекты, например ощущение зуда, гиперемия, жжение (которые могут наблюдаться при использовании крема ламизила), анмарин не обладает аллергизирующими свойствами и может применяться у женщин в период беременности и лактации.

Гепатозащитное средство «Силимар» по составу и свойствам является аналогом зарубежных препаратов, получаемых из расторопши пятнистой («Карсил» - Болгария, «Силимарин» - ФРГ и «Легалон» - Югославия). Силимар обладает рядом свойств, обуславливающих его защитное действие на печень при воздействии различных повреждающих агентов. Сравнительными исследованиями установлено, что силимар по гепатозащитному эффекту при токсическом поражении печени, вызванном четыреххлористым углеродом, превосходит кар-

сил. Силимар проявляет антиоксидантные и радиопротекторные свойства, усиливает детоксицирующую и внешнесекреторную функцию печени, оказывает спазмолитическое и небольшое противовоспалительное действие. У больных силимар, применяемый по тем же клиническим показаниям (гепатиты и циррозы печени, в том числе алкогольного генеза), по эффективности не уступает зарубежным аналогам: оказывает выраженное гепатозащитное действие, тормозит процессы цитолиза, препятствует развитию холестаза, нормализует размеры печени, снимает болевой синдром, улучшает аппетит.

Желчегонное средство «Танацехол» по сравнению с аналогичным зарубежным препаратом «Фламин» оказывает более выраженный и длительный желчегонный эффект. Отличительными преимуществами танацехола являются: наличие спазмолитического действия на желчный пузырь, желчные протоки и кишечник, наличие гепатозащитного и антиоксидантного эффекта.

Комплексный растительный препарат гепатопротекторного и желчегонного действия «Сибектан» оказывает гепатопротекторное, мембраностабилизирующее, антиоксидантное, желчегонное и усиливающее процессы регенерации действие. Препарат применяют у взрослых больных при хроническом персистирующем гепатите, хроническом холецистите и гипомоторной дискинезии желчного пузыря, а также в комплексной терапии цирроза печени и жировой дистрофии печени алкогольного генеза. Лечебное воздействие сибектана аналогично эффективности зарубежного препарата «Карсил». Особенностью сибектана, отличающей его от других препаратов гепатозащитного действия, является возможность его применения при патологии гепатобилиарной системы, осложненной воспалительным состоянием слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки.

Противовоспалительный препарат «Ротокан» близок к зарубежному средству из ромашки «Ромазулан». Трехкомпонентный состав ротокана позволил сочетать в нем противовоспалительную и спазмолитическую активность ромашки с ранозаживляющими свойствами, присущими календуле, и кровоостанавливающими, присущими тысячелистнику. В эксперименте сравнение ротокана с ромазуланом выявило его преимущество по эффекту заживления экспериментальных язв желудка, асептических кожных ран и выраженности гемостатического действия. Изучение ротокана в ведущих стоматологических и гастроэнтерологических клиниках страны показало его эффективность как при местном применении (в случаях воспалительных заболеваний слизистых оболочек полости рта), так и при приеме внутрь при желудочно-кишечной патологии. Ротокан по сравнению с ромазуланом, более эффективно уменьшает болевой синдром, отечность, гиперемию, оказывает гемостатическое действие и способствует эпителизации эрозий при эрозивно-язвенных заболеваниях полости рта (афтозный стоматит, пародонтит, язвенно-некротический гингивостоматит), желудка и две-

надцатиперстной кишки (гастриты, язвенная болезнь, гастродуодениты, холециститы), кишечника (хронические энтероколиты, спастические колиты, проктосигмоидиты). Таким образом ротокан может применяться по тем же показаниям, что и зарубежный препарат ромазулан, однако значительно превосходит его по выраженности и разносторонности лечебного эффекта.

Дофаминэргическое средство «Абергин», являющийся аналогом зарубежного препарата «Парлодел», имеет большую продолжительность действия и лучшую переносимость.

«Целанид – кардиотоническое средство, близок по свойствам к дигоксину. Целанид обладает свойствами, общими для всех сердечных гликозидов. Его основным терапевтическим эффектом является улучшение кровообращения при сердечной недостаточности за счет повышения эффективности деятельности сердца: увеличения притока крови к желудочкам, а также более мощного и полноценного выброса крови из желудочков. У больных с сердечной недостаточностью целанид уменьшает сердцебиение, увеличивает диурез, уменьшает отеки. Отличительными особенностями целанида, по сравнению с другими сердечными гликозидами, являются: эффективность при приеме внутрь, меньшая токсичность, более быстрое всасывание и наступление эффекта. Целанид назначают по тем же показаниям, что и другие препараты наперстянки: недостаточность кровообращения II и III степени различной этиологии, тахисистолическая форма мерцательной аритмии, суправентрикулярная форма пароксизмальной тахикардии и т. д. Значительным преимуществом целанида является возможность его применения при более тяжелых формах сердечной недостаточности (II и III степени), а также его лучшая переносимость в течение длительного срока применения.

Седативное средство «Беллатаминал» – комбинированный препарат, содержащий эрготамина тартрат, фенобарбитал и сумму алкалоидов красавки. По составу и свойствам беллатаминал практически является аналогом чешского препарата «Белласпон» и близок к венгерскому препарату «Беллоид». Препарат уменьшает возбудимость центральных и периферических адренергических и холинергических систем организма, оказывает успокаивающее действие на центральную нервную систему. Беллатаминал применяют при повышенной раздражительности, бессоннице, гипертиреозе, нейродермитах, экземе, при нейрогенной диспепсии и других вегетативных дистониях. Клиницисты отмечают успешное применение препарата при неврозах различной этиологии, аллергических заболеваниях, мигрени, некоторых видах дерматозов, различных проявлениях вегетодистонии. Беллатаминал оказывает слабое гипотензивное и брадикардизирующее действие, уменьшает сердцебиение, устраняет чрезмерное потоотделение, повышенную моторику кишечника, повышенный обмен веществ и состояние возбуждения. В медицинской практике препарат используется в виде таблеток.

Миотропное средство «Эрготметрина малеат» по фармакологическим свойствам и ме-

дицинским показаниям аналогичен метилэргометрину и эрготамину. Эргометрина малеат оказывает тонизирующее действие на мускулатуру матки, усиливает ритмичные маточные сокращения. Эргометрина малеат применяют при ранних послеродовых кровотечениях, замедленной инволюции матки в послеродовом периоде, кровотечениях после кесарева сечения и кровянистых выделениях после аборта при условии неэффективности других терапевтических средств. Преимуществами эргометрина малеата перед эрготамином является его меньшая токсичность, отсутствие противопоказаний при заболеваниях сердечно-сосудистой системы и печени, а также при септических состояниях.

В результате многолетней селекционной работы специалистами ВИЛАР получен штамм спорыньи, позволяющий выделять из него в значительных количествах индивидуальный эргокрестин, на основе которого было создано отечественное спазмолитическое альфа-адренолитическое средство - «Дигидроэргокрестин». Дигидроэргокрестин относится к группе эргоалкалоидов с выраженными альфа-адренолитическими свойствами. Он обладает центральным и периферическим альфа-адреноблокирующим действием: предупреждает развитие спазма мозговых сосудов адренергической природы. Оказывает гипотензивный эффект и замедляет частоту сердечных сокращений. Препарат обладает также слабыми серотонинолитическими, противосвертывающими и седативными свойствами. Дигидроэргокрестин применяют у взрослых при нарушениях мозгового кровообращения, связанных с гипертонической болезнью, ранними стадиями атеросклероза сосудов мозга, последствиями черепно-мозговых травм, мигрени, нарушениях периферического кровообращения (болезнь Рейно и др.), а также с целью улучшения кровоснабжения мозга у людей пожилого возраста. Отечественный препарат «Дигидроэргокрестин» по физико-химическим показателям, фармакологическим и токсикологическим характеристикам идентичен зарубежному дигидроэргокрестину, выпускаемому под разными фирменными названиями: «Decme» («Spitzner»), «Enirant» («Desitin Werke»), «Nehydrin» («TAD») – Германия, «Diertine» – Испания, «Diertina» – Италия, Швейцария, «Insibrin» («Byk Liprandi») – Аргентина.

Антиоксидантное и капилляропротекторное средство «Диквертин» из лиственницы даурской и лиственницы сибирской по фармакотерапевтическому действию является аналогом кверцетина. Диквертин обладает антиоксидантными свойствами, капилляропротекторной и противоотечной активностью. Он активизирует процессы регенерации слизистой желудка, оказывает гепатопротекторное (антитоксическое) действие, обладает радиопротекторной активностью. Диквертин применяют у взрослых при бронхолегочных заболеваниях, в том числе при острых пневмониях, хронических обструктивных бронхитах, бронхиальной астме (инфекционно-зависимая форма) в стадии обострения в качестве патогенетической терапии. В составе комплексной терапии в сочетании с другими лекарственными средствами

диквертин используют при ишемической болезни сердца (нестабильная стенокардия) и наджелудочковых нарушениях ритма сердца. По направленности и выраженности фармакологической активности диквертин не уступает кверцетину и другим широко используемым антиоксидантным средствам, в том числе «АО комплекс», «Аскорутин» и др.

Кроме перечисленных, институтом разработан и осуществлен выпуск ряда других оригинальных эффективных препаратов, таких как сангвиритрин, эвкалимин, гипорамин, флакозид и др., не имеющих импортных аналогов.

«Сангвиритрин» – антимикробное средство широкого спектра действия, получаемое из растений рода Маклейя. Сангвиритрин является одним из наиболее эффективных антимикробных средств для профилактики и лечения гнойно-воспалительных заболеваний кожи и слизистых оболочек в неонатологии, гинекологии, хирургии, стоматологии, отоларингологии и дерматологии. Эффективен в отношении моно- и полирезистентных к антибиотикам штаммов патогенных микроорганизмов. К сангвиритрину, даже при его длительном применении не развивается устойчивости микроорганизмов. Хорошая переносимость, отсутствие ряда побочных действий, присущих антибиотикам и синтетическим лекарственным средствам, позволяют широко применять сангвиритрин в качестве антимикробного средства общерезорбтивного действия у пациентов взрослого и детского возраста, включая новорожденных детей и беременных женщин. Сангвиритрина выпускают в 3 лекарственных формах для наружного применения: линимент 1%, водно-спиртовой раствор 0,2%, 0,1-0,001% водные растворы, и успешно прошел клинические испытания в виде таблеток 0,005 г с кишечнорастворимым покрытием в качестве антимикробного средства общерезорбтивного действия.

«Эвкалимин» - антибактериальное и противовоспалительное средство, получаемое из листьев эвкалипта прутовидного. Эвкалимин высоко эффективен в отношении стафилококков, стрептококков, энтерококков, возбудителя дифтерии, туберкулезных микобактерий, кандиды и др., в том числе антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов. К эвкалимину не развивается устойчивости у микроорганизмов при длительном применении. Эвкалимин стимулирует Т-клеточный иммунитет и индукцию интерферона. Препарат применяют в качестве антибактериального и противовоспалительного средства местного и общерезорбтивного действия у взрослых, в том числе беременных женщин, и детей при ОРЗ, хронических гнойно-воспалительных заболеваниях в оториноларингологии, стоматологии, хирургии, гинекологии, урологии и проктологии. Эвкалимин может применяться как в виде монотерапии, так и в сочетании с антибиотиками и другими химиотерапевтическими средствами, обладает хорошей переносимостью, отсутствием каких-либо побочных действий, присущих антибиотикам (ототоксичность, нефротоксичность, развитие дисбактериоза, аллергия и т. д.).

“Асепидин” – это препарат, получаемый из бархата амурского. Как противовирусное средство асепидин отличается наличием высокой эффективности в отношении вирусов гепатита и вирусов группы герпеса. Вместе с тем, асепидин обладает антигепатотоксическими свойствами, обусловленными стабилизирующим влиянием на клеточные мембраны. Асепидин разрешен к медицинскому применению у взрослых и детей в качестве противовирусного и антигепатотоксического средства при острых вирусных гепатитах А и В, первичных и рецидивирующих формах простого герпеса экстрагенитальной и генитальной локализации, опоясывающем лишае, ветряной оспе и кори, при хронических диффузных заболеваниях печени и дискинезии желчевыводящих путей. Препарат обладает хорошей переносимостью и отсутствием каких-либо побочных явлений при его применении у больных разных возрастных групп.

«Флакозид» – оригинальный препарат, получаемый из бархата амурского. Как противовирусное средство флакозид отличается наличием высокой эффективности в отношении вирусов гепатита и вирусов группы герпеса. Вместе с тем, флакозид обладает антигепатотоксическими свойствами, обусловленными стабилизирующим влиянием на клеточные мембраны. Флакозид разрешен к медицинскому применению у взрослых и детей в качестве противовирусного и антигепатотоксического средства при острых вирусных гепатитах А и В, первичных и рецидивирующих формах простого герпеса экстрагенитальной и генитальной локализации, опоясывающем лишае, ветряной оспе и кори, при хронических диффузных заболеваниях печени и дискинезии желчевыводящих путей. Препарат обладает хорошей переносимостью и отсутствием каких-либо побочных явлений при его применении у больных разных возрастных групп.

«Хелепин Д» - оригинальный противовирусный препарат из десмодиума канадского. Хелепин Д эффективен при герпесвирусной и аденовирусной инфекции глаз. Среди других противовирусных средств, применяемых для лечения герпетической инфекции глаз, хелепин Д выделяется высокой эффективностью у больных с глубоким офтальмогерпесом, наличием противовоспалительного действия; хорошей переносимостью, отсутствием побочных явлений при длительном применении, в отличие Офтан-IDU, который оказывает токсическое действие на клетки эпителия и строму роговицы.

В связи с увеличением числа заболеваний, связанных с ослаблением естественной устойчивости организма одним из актуальных направлений в деятельности ВИЛАР является разработка биологически активных добавок (БАД) на основе лекарственного растительного сырья, повышающих резистентность организма к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды. Результатом работы коллектива специалистов института явилось создание биологически активной добавки общеукрепляющего и мягкого тонизирующего действия

«Виларин». БАД «Виларин» является сухим суммарным экстрактом из сбора лекарственного фармакопейного растительного сырья: корневищ с корнями рапontiкума (левзеи) сафлоровидного, корневищ и корней элеутерококка колючего, травы эхинацеи пурпурной, корней солодки голой, листьев толокнянки и плодов шиповника. Виларин повышает физическую работоспособность и выносливость, двигательную активность, улучшает координацию движений, увеличивает устойчивость к гипоксии и эмоциональному стрессу, оказывает противовоспалительное, капилляропротекторное и диуретическое действие. Виларин применяют у взрослых в качестве биологически активной добавки к пище адаптогенного и общеукрепляющего действия, особенно в ситуациях, требующих быстрого восстановления работоспособности, снижения риска развития заболеваний воспалительного характера, в том числе для профилактики воспаления предстательной железы и мочеполовой системы в целом.

Приведенные примеры свидетельствуют, что растительные препараты, созданные в нашем институте, разрабатываются на современном научном уровне, полностью конкурентноспособны по своим фармакотерапевтическим свойствам, и, с учетом их более низкой стоимости, вполне могут заменить импортные аналоги на отечественном фармацевтическом рынке.

BIKOV V.A., KOLKHIR V.K., VICHKANOVA S.A., SOKOLSCAIA T.A.,
KRUTIKOVA N.M.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

DEVELOPMENT OF DRUGS FROM MEDICINAL PLANT RAW MATERIAL

The searching of new biologically fissile substances from medicinal plant raw material and development on their basis of new pharmaceuticals is yielded at a modern scientific level. The drugs are capable to compete to import analogs.

В.К.КОЛХИР, С.А.ВИЧКАНОВА, Н.М.КРУТИКОВА, Т.А.СОКОЛЬСКАЯ,
Л.В.КРЕПКОВА, БОРТНИКОВА В.В.

ВИЛАР, г. Москва, Россия

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ДОКЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

В последние годы во всем мире остается высоким интерес к лекарственным препаратам, созданным на основе природного сырья (лекарственные растения, животное сырье, продукты пчеловодства, продукты моря и др.). По сравнению с синтетическими лекарственными средствами, препараты природного происхождения обладают рядом особенностей: содержат, как правило, несколько биологически активных веществ; имеют широкий спектр фармакологической активности; характеризуются плавным нарастанием фармакологического эффекта.

Источником получения таких лечебных средств (особенно многокомпонентных) часто являются лекарственные растения, длительно применяющиеся в медицине или включенные в Фармакопеи разных стран.

В настоящее время возникла настоятельная необходимость в унифицировании подходов к доклиническому изучению новых лекарственных средств природного происхождения. По поручению Научного Центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств коллектив авторов (В.Г.Кукес, В.М.Булаев, В.К.Колхир, С.А.Вичканова, Е.Е.Лесиовская, И.А.Самылина, Т.А.Сокольская, Л.В.Крепкова, Н.М.Крутикова, В.Г.Ребров, Н.Ю.Фролова, Н.Г.Оленина) подготовил “Методические рекомендации по доклиническому изучению новых лекарственных препаратов, разрабатываемых из природного сырья”. Эти “Рекомендации” являются частью общей программы доклинических фармакологических и токсикологических исследований, обязательных при разработке новых лекарственных средств, и включают дополненные и уточненные показатели, унифицирующие порядок и объем экспериментального доклинического изучения лекарственного природного средства в зависимости от состава, необходимой нормативной и другой сопроводительной документации. Основные положения разработанных рекомендаций легли в основу настоящей статьи.

Изучение фармакологической активности и безопасности препаратов, разрабатываемых на основе природного сырья должно осуществляться в соответствии с действующими “Методическими рекомендациями” ФГК МЗ РФ по изучению безопасности и фармакотерапевтической активности новых фармакологических средств в экспериментах на лабораторных животных, а также в условиях эксперимента “in vitro”. При этом объем экспериментального изучения зависит от состава и имеющегося опыта использования компонентов лекарственного средства, в том числе и при доклиническом изучении природных препаратов, ранее применявшихся в качестве биологически активных добавок к пище и включающих компоненты из природного сырья.

Стандартизация лечебных препаратов природного происхождения имеет ряд особенностей, связанных со сложным комплексом содержащихся в них биологически активных веществ. На все новые лекарственные вещества из природного сырья, новые виды природного сырья, лекарственные препараты на их основе или новые лекарственные формы известных препаратов, новые стандарты должна быть разработана нормативная документация (нормативный документ, НД) в виде Проекта Временной Фармакопейной Статьи (ВФС), созданная на основе современных методов физико-химического анализа. Нормативный документ должен иметь ссылку на документацию, регламентирующую технологический процесс и позволяющую получать препарат с заданными показателями качества (лабораторный или опытно-

промышленный регламент). Доклиническим испытаниям подвергаются стандартизованные препараты, отвечающие требованиям ВФС.

Условно новые лекарственные средства природного происхождения можно разделить на 4 основные группы.

1. Оригинальные монокомпонентные препараты природного происхождения:

- Новое химическое биологически активное соединение.
- Новый (неофициальный) вид природного сырья, лекарственный препарат, разработанный на его основе.
- Новый лекарственный препарат, разработанный на основе используемого в медицине (официального) вида природного сырья.

2. Оригинальные многокомпонентные препараты природного происхождения:

- Новые композиции, имеющие в своем составе не описанные ранее химические соединения, выделенные из природного сырья.
- Новые композиции, имеющие в своем составе неофициальные виды природного сырья и/или полученные на их основе субстанции.
- Новые композиции, имеющие в своем составе официальные виды природного сырья и/или содержащие разрешенные к медицинскому применению компоненты.
- Новые композиции, имеющие в своем составе неофициальные виды природного сырья, широко используемые в народной медицине или пищевой промышленности, и/или полученные на их основе субстанции.

3. Известные одно- и многокомпонентные препараты природного происхождения:

- Известное лекарственное средство природного происхождения, заявляемое по новым показаниям.
- Известное лекарственное средство, заявляемое в новой лекарственной форме.
- Известное лекарственное средство, заявляемое для применения в новых лечебных (разовых, суточных, курсовых) дозах.
- Воспроизводимый препарат из природного сырья.

4. Препараты природного происхождения, разрабатываемые на основе разрешенной к применению БАД.

Для каждой из этих групп препаратов определяется порядок и объем экспериментального доклинического изучения, включающий проведение фармакологических и токсикологических исследований, обусловленный в каждом конкретном случае химическим составом лекарственного средства, сведениями об эффективности и безопасности применения ис-

пользуемого природного сырья в отечественной и/или зарубежной медицине, видом заявляемой специфической активности и др.

Фармакологическую активность (общую и специфическую) новых препаратов природного происхождения изучают в соответствии с действующими Методическими рекомендациями, разработанными ФГК МЗ РФ и утвержденными Минздравом России, для отдельных фармакотерапевтических групп препаратов. Исследования проводят на различных видах лабораторных животных с использованием экспериментальных моделей патологических состояний, а также в условиях эксперимента *in vitro*.

При этом, для новых лекарственных средств природного происхождения (оригинальные однокомпонентные препараты или оригинальные многокомпонентные композиции, имеющие в своем составе новые химические соединения из природного сырья или неофициальные виды природного сырья и/или полученные на их основе субстанции) изучение общепармакологической и специфической активности проводят в полном объеме. Для препаратов, представляющих собой индивидуальное химическое соединение проводят также необходимые фармакокинетические исследования.

Для новых композиций, имеющих в своем составе официальные виды природного сырья и/или содержащие разрешенные к медицинскому применению компоненты, или неофициальные виды природного сырья, но широко используемые в народной медицине и/или пищевой промышленности, и полученные на их основе субстанции, а также для одно- и многокомпонентных препаратов природного происхождения, заявляемых по новым показаниям, или в новой лекарственной форме, или в новых дозах возможно проведение исследований не в полном объеме, а ограничиться использованием в эксперименте 1-2 основных методик, подтверждающих заявляемое фармакологическое действие препарата.

При воспроизводстве известных, в том числе импортных, фармакотерапевтических средств из природного сырья должна быть документально подтверждена идентичность воспроизводимого лекарственного средства базовому препарату (химическое строение и/или химический состав, лекарственная форма) и представлена подробная литературная справка, отражающая все аспекты фармакологической активности исходного препарата.

Оценка фармакологической активности лечебных средств из природного сырья на основе разрешенной к применению БАД проводится с учетом ранее проведенных испытаний. В случае, если необходимый объем фармакологических исследований был выполнен полностью при подготовке БАД, возможно ограничиться представлением протоколов по результатам этих исследований. В случае, если фармакологическое изучение БАД ранее не проводили или оно было выполнено лишь частично, то при доклиническом исследовании

препаратов природного происхождения на основе разрешенной БАД, фармакологические исследования должны быть проведены в соответствии с представленной классификацией.

Объем исследований при оценке безопасности препаратов природного происхождения определяется теми же принципами, что и при оценке их фармакологической активности.

Для новых (оригинальных) препаратов природного происхождения (новые однокомпонентные препараты, новые виды природного сырья, многокомпонентные препараты, содержащие неофицинальные виды сырья, новые химические соединения из природного сырья) токсикологические исследования предусматривают проведение экспериментов в полном объеме в соответствии с действующими Методическими рекомендациями, разработанными и утвержденными ФГК МЗ РФ и Минздравом России. В опытах используют различные виды лабораторных животных для изучения общетоксического, мутагенного, аллергизирующего, иммунотоксического, канцерогенного, эмбриотоксического действий и влияния на репродуктивную функцию, а также лечения передозировок, вызванных данным лекарственным средством. Более широкие исследования аллергенности препаратов и других видов общей и специфической токсичности проводят в случае выявления этих видов токсичности на начальных этапах исследования.

Наряду с проведением токсикологических исследований новых препаратов природного происхождения по полной программе, необходимо выделить объем требований к доклиническому изучению безопасности препаратов, представляющих собой композиции из известного природного сырья (сборы из фармакопейного сырья, новые лекарственные формы препаратов на основе природного сырья, уже применяющегося в медицинской практике). При этом дозы основных действующих веществ, входящих в состав таких препаратов, не должны превышать дозы, ранее разрешенные к медицинскому применению. Для данных групп лечебных средств природного происхождения при изучении их безопасности рекомендуется рациональная программа токсикологических исследований, включающая в себя изучение токсичности препаратов при однократном введении лабораторным животным (острая токсичность); изучение токсичности препаратов при длительном введении (хроническая токсичность); изучение аллергизирующих и местнораздражающих свойств. Обязательно выполнение следующего объема исследований.

- Острую токсичность препаратов, относящихся к перечисленным группам, следует изучать в соответствии с "Методическими рекомендациями по изучению общетоксического действия фармакологических средств" (ФГК МЗ РФ, 1997), однако возможно ограничить проведение изучения токсичности этих препаратов при одном способе введения, который рекомендован для клинической практики.

- Изучение хронической токсичности препаратов, относящихся к этим группам, проводится также в соответствии с указанными “Методическими рекомендациями” ФГК МЗ РФ (1997 г.), но можно ограничиться экспериментами на крысах (самцах или самках, в зависимости от половой чувствительности к препарату) при введении в двух дозах в течение 1-6 месяцев (в зависимости от длительности применения данных препаратов у человека). При невозможности введения готовой лекарственной формы крысам, хронический эксперимент следует проводить на кроликах в одной дозе, применяя способ введения, рекомендованный для клинических исследований.
- Изучение аллергизирующих и местнораздражающих свойств препаратов этих групп необходимо изучать в соответствии с действующими “Методическими рекомендациями”, в том числе “Методическими рекомендациями по оценке аллергенных свойств фармакологических средств”.

Таким образом, объем доклинических исследований разрабатываемых препаратов природного происхождения определяется, прежде всего, сведениями об эффективности и безопасности применения данного природного сырья в отечественной и зарубежной медицине, химическим составом, видом заявляемой специфической активности. При изучении фармакологической активности и безопасности новых лекарственных средств природного происхождения на доклиническом этапе исследования необходимо руководствоваться действующими методическими рекомендациями Фармакологического Государственного Комитета МЗ РФ. Заявленная активность должна быть подтверждена в сравнении с известными лечебными природными средствами из данной фармакологической группы, а если таковых нет - с эталонными по заявляемой активности препаратами, полученными путем синтеза. Желательно также, чтобы препарат сравнения соответствовал исследуемому препарату природного происхождения по лекарственной форме и пути введения.

Особое внимание следует уделить обоснованию эффективных доз новых лекарственных средств природного происхождения по результатам экспериментальных исследований и с учетом литературных данных. Требуется также определить и обосновать курс лечения, определить максимально допустимые разовые и курсовые дозы, вопросы, связанные с передозировками.

Все исследования должны быть оформлены в виде научных протоколов (отчетов), обобщающих результаты фармакологических и токсикологических исследований. Одновременно представляются все необходимые нормативные документы на препарат природного происхождения (ВФС на субстанцию, стандарт, лекарственную форму, сырье), а также научно обоснованный проект названия нового лекарственного средства, проект программы клинических исследований, проект инструкции по медицинскому применению препарата, со-

ставленный в соответствии с новыми требованиями ФГК МЗ РФ. При этом показания, включаемые в проект инструкции на новый препарат природного происхождения должны вытекать из представленных научных отчетов.

Кроме того, авторы представляют литературную справку, касающуюся данного препарата природного происхождения и его состава, а также объяснительную записку, в которой излагается обоснование разрабатываемого лекарственного средства, объем проведенных научных исследований и достигнутые результаты. Сопроводительные письма на бланке учреждения-разработчика подписываются руководителем учреждения и направляются в соответствии с установленными МЗ РФ правилами. Для проведения фармацевтической экспертизы разработчик представляет также маркированные образцы препарата (субстанция, стандарт, лекарственные формы) в необходимых для исследования количествах.

ЛИТЕРАТУРА:

1. В.Г. Кулес, В.М. Булаев, В.Г. Ребров, Т.А.Посредникова. (1998) Вопросы повышения качества доклинического изучения и клинических испытаний препаратов природного происхождения. /Материалы Второго международного съезда “Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения”.– С.-Петербург –Валаам.– С.24-26.
2. Е.В. Арзамасцев, Т.А. Гуськова, С.С. Либерман, Б.И. Любимов, А.Г.Рудаков, О.Л. Верстакова. (1998) Методические рекомендации по изучению общетоксического действия фармакологических средств. / Вестники Фармакологического Комитета. №1, С.27-32.

Kolkhir V.K., Vichkanova S.A., Krutikova N.M., T.A.Sokolskaya, Krepkova L.V., Bortnikova V.V.

ALL-Russian scientific-research institute of medicinal and aromatic plants, Moscow, Russian

SOME ASPECTS OF A PRECLINICAL INVESTIGATION OF MEDICINAL REMIDIES OF PLANT-ORIGION.

In the article there is an information about character and needful volume of pharmacological and toxicological preclinical study and about documentation, what is to be presented to the Pharmacological Committee before clinical investigations of new plant-origin biologically-active substances.

БЫКОВ В.А., МИНЕЕВА М.Ф., НАЙМЫТЕНКО Е.П., КОЛХИР В.К.

ВИЛАР, Москва, Россия

СТРЕСС-ПРОТЕКТИВНЫЕ МНЕМОТРОПНЫЕ ПЕПТИДЫ ИЗ РАСТЕНИЙ

Несмотря на сравнительно большое число имеющихся ноотропов, психоэнергизаторов (улучшающих умственную и физическую работоспособность через улучшение энергетического обмена), стресс-протекторов, все еще существует потребность в изыскании новых веществ этого профиля, с новыми (отличающимися от известных) механизмами действия и фармакологическими спектрами в связи с многообразием механизмов развития состояний, связанных с ослаблением памяти, когнитивных функций, а также в связи тем, что имеющиеся препараты не обеспечивают полностью потребность в средствах, способствующих поддержанию высокой психической и физической устойчивости в неблагоприятных условиях, к которым можно отнести не только загрязнение окружающей среды, но и возрастающие психо-эмоциональные нагрузки, связанные с профессиональной деятельностью и социальными факторами.

Среди веществ, положительно влияющих на когнитивные функции мозга, привлекают внимание вещества пептидной природы. Открытие эндогенных регуляторов пептидной природы явилось большим достижением молекулярной биологии и медицины [9]. Эндогенные пептиды играют важную роль в регуляции биохимических и физиологических процессов в организме животных и растений, в том числе у животных и человека - в регуляции специфических нейрхимических процессов в центральной нервной системе [1, 4].

В настоящее время некоторые пептидные препараты применяются в медицинской практике, например: каптоприл, даларгин, семакс [6]. Известны многочисленные попытки практического применения коротких пептидов, являющихся С-концевыми фрагментами пептидных гормонов гипоталамуса: холецистокинина, вазопрессина, соматостатина, люлиберина, других пептидов животного происхождения в качестве фармакологических препаратов, оказывающих регуляторное влияние на центральную нервную систему.

Растительные пептиды, обладающие стресс-протективными и мнемотропными свойствами в доступной нам литературе не описаны. Несколько лет назад Е.П.Наймытенко и соавторы выделили, по оригинальной методике, из омелы белой и пшеницы белково-пептидный препарат и установили наличие в нем иммуномодулирующей активности [3].

В связи с тем, что вещества с иммуностропной активностью могут оказывать влияние на центральную нервную систему [5], было проведено изучение нейрпсихотропной активности белково-пептидных препаратов, полученных из омелы белой (Р-07) и пшеницы (ПО-5), при системном введении животным.

Было установлено, что Р-07 и ПО-5 оказывают активирующее влияние на центральную нервную систему, судя по результатам тестов "спонтанной двигательной активности",

“вращающегося стержня”, действия снотворных анализаторов : хлоралгидрата (в дозе 350 мг/ кг), барбитала натрия (в дозе мг/кг), гексенала (в дозе 70 мг/кг).

В настоящей статье приводятся доказательства стресс-протективного действия Р-97 и ПО-5, отличительной чертой которого является сохранение когнитивных функций, памяти в условиях кратковременного и длительного стресса.

Влияние Р-07 и ПО-5 на экстраполяционное поведение крыс в ситуации острого стресса изучали в тесте Хендерсона в модификации Н.А.Бондаренко [2] . В этом тесте влияние фармакологического агента на экстраполяционное поведение (элементы рассудочной деятельности) животных оценивается по величине латентного периода избавления из аверсивной ситуации. Из табл.1 видно, что Р-07 и ПО-5 оказывают положительное влияние на экстраполяционное поведение животных : крысы, получившие однократно, за 30 минут до эксперимента эти препараты, быстрее находят выход из аверсивной ситуации в условиях острого, неожиданно возникшего сильного стресса.

Таблица 1

Влияние препаратов Р-07 и ПО-5 на экстраполяционное поведение крыс

Вариант опыта		Латентный период избавления, М+m		Оп/К
Контроль	0	95,8 + 28	n ₁ = 3	
Р-07 , 100 мкг/кг ,	0	70,7 + 15,8 ;*	n ₁ = 10	0,76
Р-07 , 300 мкг/кг	0	66,5 + 14,0; *	n ₁ = 9	0,70
ПО-5, 100 мкг/кг	0	72,9 + 16,7	n ₁ = 9	0,76
ПО-5, 300 мкг/кг,	0	72,2 + 9,2 *	n ₁ = 10	0,75

Примечание: * - достоверность отличий при $p < 0,05$; n₁- число животных, решивших задачу; n - число животных в группе

Стресс-протективное действие Р-07 проводили также на моделях длительного психо-эмоционального стресса: стресса “ожидания”, создаваемого путем многократной фиксации хвоста, и стресса “выученной беспомощности”, создаваемой посредством многократного неизбежного электроболевого воздействия(НЭБВ) в течение трех дней .НЭБВ проводили в отсеке челночной камеры при закрытой дверце. Перед началом стрессирования поведение животных тестировали в установке “открытое поле” норкового типа”.

Р-07 и ПО-5 не оказывали существенного влияния на поведение животных при подкожном введении в дозах 100 мкг/кг и 300 мкг/кг (табл.2). Однако следует отметить тенденцию к повышению двигательной-ориентировочной активности и снижению уровня эмоцио-

нального напряжения, о чем свидетельствует уменьшение числа эпизодов груминга и дефекации.

Изучение мнемотропных свойств Р-07 и ПО-5 проводили по методике УРАИ (выработка условного рефлекса активного избегания - УРАИ) в челночной камере, используя для этой цели установку фирмы Уго Базиле, Италия. Обучение проводили в течение четырех дней, по десяти минут ежедневно.

Таблица 2

Влияние препаратов Р-07 и ПО-5 на поведение крыс в “открытом поле” норкового типа

Показатель поведения	Число поведенческих эпизодов					
	Контроль	Р-07, 100 мкг/кг	Р-0,7 300 мкг/кг	Контроль	ПО-5, 100 мкг/кг	ПО-5, 300 мкг/кг
Горизонт. активность	16,1±5,0	18,0±8,1	25,7±10,0	17,2±5,4	13,9±3,1	20,3±8,5
“Норки”	14,7±5,9	10,6±3,0	18,0±9,2	19,4±2,8	10,2±2,7	13,7±1,8
Вертикальн. активность	10,0±5,0	8,3±2,0	12,0±3,4	13,0±2,6	9,0±3,0	4,5±2,0
Стойки	1 (n ₁ =4)	0	0	1 (n=5)	0	0
Груминг	5,7(n ₁ =8)	2,5(n ₁ =4)	2,5(n ₁ =6)	14,0(n ₁ =7)	6,0(n ₁ =3)	9,1(n ₁ =5)
Напряжение хвоста	n ₁ =5	n ₁ =2	¹ n ₁ =4	n ₁ =5	n ₁ =2	n ₁ =3
Дефекация	7,6±3,4	5,0±1,5	3,8±1,6	8,0±4,6	6,7±4,4	6,3±5,0

Примечание. В каждой группе по 10 крыс; n₁ - число животных, у которых проявлялся соответствующий поведенческий признак.

Р-07, особенно в дозе 100 мкг/кг, оказывает положительное влияние на обучение, о чем свидетельствует уменьшение латентного периода УРАИ (табл.3). Следует отметить, что Р-07 вводили однократно, за 30 минут до первого помещения животного в челночную камеру. В последующем, перед другими тремя сеансами обучения препарат не вводили. Результаты, приведенные в табл.3, свидетельствуют о длительности мнемотропного эффекта Р-07. Исходные показатели латентного периода УРАИ (первый день обучения), как видно из таблицы, были близки у животных всех трех групп. Соотношение латентных периодов УРАИ четвертого дня обучения и первого дня обучения, принятое мерой обученности, составляло для контрольной группы животных 0,41; для животных, получивших Р-07 в дозе 100 мкг/кг - 0,30; для крыс, получивших Р-07 в дозе 300 мкг/кг - 0,35. Эти результаты свидетельствуют о том, что животные, получившие Р-07 однократно перед первым сеансом обучения, быстрее вырабатывали УРАИ, то есть обучались лучше, чем контрольные животные. Аналогичные результаты получены с ПО-5 (табл.4) ПО-5 при однократном введении в дозе 25 мкг/кг оказывает положительное влияние на обучение крыс УРАИ в челночной камере. Так, соот-

ношение латентных периодов УРАИ третьего дня обучения и первого дня составило для контрольных животных 0,61; для животных, получивших ПО-5 ,однократно, в дозе 25 мкг/кг, за 30 минут до первого сеанса обучения, соотношение латентных периодов составило 0,50.

Таблица 3

Влияние препаратов Р-07 и ПО-5 на выработку УРАИ в челночной камере

Вариант опыта	Латентный период избегания <u>M+m</u> , усл.ед.		
	первый день обучения	четвертый день обучения	1V / 1
Контроль	1570,3 + 103,2	623,5 + 191,3	0,40
Р-07, 100 мкг/кг	1531,7 + 91,7	465,1 + 237,1 *	0,30
Р-07,300 мкг/кг	1392,0 + 63,6	562,4 + 238,2	0,40
Контроль	1513,8 + 81,0	650,9 +211,3	0,43
ПО-5, 25 мкг/кг	1312,6 + 71,9	433,4 + 220,9	0,33

* - достоверность отличий от контроля при $p < 0,05$

Таким образом, установлено, что белково-пептидные препараты растительного происхождения Р-07 и ПО-5 оказывают положительное влияние на обучение, то есть положительно влияют на оперативную память. После четырех дневного обучения животных подвергали стрессированию путем фиксации хвоста, предварительно измерив пороги болевой чувствительности по тесту “давление острия на лапу”.

Фиксация хвоста у его основания является для крыс стрессогенным фактором, так как у крысы хвост играет роль “тылового локатора В течение четырех дней крыс ежедневно подвергали стресс-воздействию путем четырех часовой фиксации хвоста.

Результаты тестирования крыс в “открытом поле” после четырехдневного стрессирования представлены в табл.4. У крыс после длительного (четырёхдневного) стрессирования ориентировочно-двигательная реакция повышена, судя по величине горизонтальной двигательной активности и по числу заглядываний в отверстия (норки). Однако уровень возбуждения значительно ниже, чем у контрольных животных: у крыс, получавших Р-07 в дозе 100 мкг/кг, отсутствовали эпизоды вставания на задние лапы и “классические” эпизоды стереотипии (грызение, щелканье зубами,. принюхивание) в отличие от контрольных животных, подвергавшихся такому же стресс - воздействию. Существуют доводы в пользу оценки вставания на задние лапы как проявления стереотипии [4]. Таким образом, Р-07 проявляет защитное действие на модели стресса ожидания в отношении поведения животных.

Таблица 4

Влияние Р-07 на поведение крыс, подвергавшихся многократной фиксации хвоста, в “открытом поле” норкового типа

Вид активности	Число поведенческих актов		
	Контроль	Р-07, 100 мкг/кг	Р-07, 300 мкг/кг
Горизонтальная активность	18,1 (8,3-27,9)	22,9 (7,8-38,0)	28,7 (23,1-34,3)
“Норки”	16,2 (12,0-20,6)	19,0 (14,6-23,4)	21,3 (13,0-29,6)
Вертикальная активность	3 (n ₁ =2)	0	14 (n ₁ =2)
Стойки	10,0 (n=8)	0	0
Груминг	5,0(n ₁ = 5)	4 (n ₁ = 2)	4 (n ₁ = 2)
Стереотипия	n ₁ =4	0	0
Напряжение хвоста	n ₁ =8	n ₁ =2	n ₁ = 2
Дефекация	2 (n ₁ = 2)	4 (n ₁ = 3)	3 (n ₁ = 1)

Примечание. n₁ - число животных, проявивших соответствующий признак; в скобках указаны границы доверительного интервала; вертикальная активность - поднятие головы при опоре на 3-4 лапы, стойки - вставание на задние лапы.

В табл.5 приведены результаты определения порогов болевой чувствительности по тесту давления острия на лапу у интактных крыс, у тех же крыс через 10 минут после введения воды (контроль) или Р-07 в дозах 100 мкг/кг и 300 мкг/кг и после четырехдневного стрессирования.

Таблица 5

Пороги болевой чувствительности крыс, получавших Р-07 перед каждой процедурой фиксации хвоста

Вариант опыта	Порог болевой чувствительности, г, $M \pm m$		
	До введения	После введения	Стрессированные
Эксперимент	15,5 + 10,2	17,1 + 7,3	11,3 + 7,3*
Р-0,7, 100 мкг/кг	10,36 + 7,0	17,9 + 5,0 **	10,1 + 3,3
Р-0,7, 300 мкг/кг	14,6 + 5,5	13,8 + 2,3	14,5 + 3,5

* - достоверность отличий от интактного состояния при $pU < 0,05$;

** - достоверность отличий от интактного состояния при $pU < 0,01$.

Из табл.5 видно, что у контрольных животных введение воды (подкожно) не вызывает достоверного повышения порога болевой чувствительности, хотя тенденция к повышению порога наблюдается. У животных, получивших (подкожно) Р-07 в дозе 100 мкг/кг наблюда-

ется достоверное повышение порога болевой чувствительности ($p < 0,01$). После четырех сеансов фиксации хвоста средняя величина порога болевой чувствительности у контрольных животных достоверно снижена на 28% по сравнению со средней величиной порога у тех же животных в интактном состоянии. У животных, получавших Р-07 в дозе 100 мкг/кг перед каждым стрессированием, средняя величина порога болевой чувствительности не отличается от контроля, хотя границы доверительного интервала шире, чем для тех же животных в интактном состоянии. Через 12 дней после окончания сеансов стрессирования и введения Р-07 тестировали уровень тревожности крыс в приподнятом крестообразном лабиринте [11] и тестировали их обучаемость в челночной камере (табл.6).

Таблица 6

Анксиолитический эффект Р-07 через 12 дней после длительного стрессирования и окончания приема препарата

Показатель поведения	Группы животных		
	Контроль	Р-07, 100 мкг/кг	Р-07, 300 мкг/кг
Время нахождения на открытой доске, сек	58,0 + 10,1	180,0 + 27,8***	279,2 + 43,3***
Расстояние, пройденное по открытой доске	20,1 + 5,0	40,0 + 6,7 ***	62,6 + 10,0***

*** - достоверность отличий от контроля при $pU < 0,001$

Контрольные животные, подвергавшиеся стрессированию, проводят на открытой доске крестообразного лабиринта всего 19% периода наблюдения, продолжающегося пять минут. Животные, получавшие перед каждым сеансом фиксации хвоста Р-07 в дозах 100 мкг/кг и 300 мкг/кг, находились на открытой доске, соответственно, 60% и 93% времени наблюдения. Результаты убедительно показывают длительность анксиолитического действия Р-07. Для тестирования памяти стрессированных крыс провели для этих животных два сеанса обучения УРАИ в челночной камере (табл.7).

Таблица 7

УРАИ крыс, подвергавшихся фиксации хвоста

Дни обучения	Латентный период УРАИ		
	Контроль	Р-07, 100 мкг/кг	Р-07, 300 мкг/кг
Первый день обучения	1156,6±118,2	1023,5±120,1	1250,2±122,3
Второй день обучения	625,1±60,3*	472,0±43,4*	545,1±52,4*

* - достоверность отличий от контроля при $pU < 0,05$.

На второй день обучения латентный период УРАИ составлял для контрольных животных в среднем 54% величины, отмеченной в первый день обучения. У животных, получавших Р-07 в дозах 100 мкг/кг и 300 мкг/кг перед каждым сеансом фиксации хвоста, латентный период УРАИ на второй день обучения составлял, в среднем, 46% и 44% величины латентного периода УРАИ первого дня обучения, соответственно. Таким образом, Р-07 проявляет стресс-протективное действие при длительном психо-эмоциональном стрессе ожидания, снижая тревожность и сохраняя относительно высокий уровень обучаемости. Для выявления возможного стресс-протективного действия на модели “выученной беспомощности” крыс подвергали неизбежному болевому раздражению лап в челночной камере при закрытой дверце в другой отсек в течение семи дней, по 10 минут ежедневно (табл.8).

Таблица 8

Тирозингидроксилаза белых клеток периферической крови крыс, подвергавшихся длительному неизбежному раздражению лап

Вариант опыта	Скорость тирозингидроксилазной реакции, нмоль/мин.мг белка, М + m			
	1	2	3	4
Интактные животные	10,0 \pm 1,0	30,0 \pm 2,9	10,0 \pm 1,2	0
Контроль (вода + ЭБР)	31,1 \pm 3,0	11,0 \pm 1,0	23,0 \pm 1,9	18,7 \pm 1,1
Р-07 (фракция 1) + ЭБР	20,5 \pm 1,7	20,3 \pm 1,8	15,0 \pm 1,3	0

Обозначения: ЭБР - электро-болевое раздражение; вода + ЭБР - животные получали воду перед каждым болевым воздействием; Р-07(фракция 1) + ЭБР - животные получали перед каждым болевым воздействием Р-07.

Животные, получавшие Р-07 (фракция 1) были более спокойны, чем контрольные животные. Для доказательства состояния стресса и стресс- протективного действия Р-07 на модели стресса, вызываемого длительным неизбежным электрическим раздражением лап, применили также биохимический тирозингидроксилазный тест [8], позволяющий диагностировать состояние адаптационных механизмов. Тест состоит в определении активности множественных форм тирозингидроксилазы (ТГ) [7] белых клеток периферической крови. О состоянии адаптационных механизмов судят по наличию и соотношению активности этих форм. У здорового человека и у интактных здоровых животных в белых клетках крови присутствуют первая, вторая и третья формы. Четвертая форма ТГ появляется при стрессе. Появление низкоаффинной (четвертой) формы при высокой активности высокоаффинных первой, второй, третьей формы ТГ служит коррелятом состояния напряжения адаптационных механизмов [8].

Из табл.9 видно, что у интактных животных четвертая (низкоаффинная) форма ТГ отсутствует. Преобладает вторая форма фермента. У контрольных животных, подвергавшихся многодневному стрессу, появилась четвертая форма ТГ с довольно высокой активностью, присутствуют также первая, вторая и третья формы. Появление четвертой формы ТГ при наличии первой, второй, третьей форм указывает на состояние напряжения адаптационных механизмов.

У крыс, получавших перед стрессированием Р-07 (фракция 1) четвертая форма ТГ не обнаруживается. Состояние этих животных можно оценить как состояние устойчивой компенсации. Таким образом, Р-07 проявляет защитные свойства также на модели психоэмоционального стресса “безнадежной ситуации”, вызванного повторяющимся болевым неизбежным воздействием.

Для выявления возможных антидепрессантных свойств Р-07 был проведен плавательный тест Порсолта [10]. В этом тесте о наличии антидепрессантных свойств судят по длительности активного плавания животных в течение пятиминутного периода наблюдения. Крысы, получившие Р-07 в дозах 100 мкг/кг и 300 мкг/кг (подкожно) за 30 минут до начала эксперимента, оказавшись в воде, подплывали к борту круглой ванны, проплывали круг по периметру, пытались выбраться, не сумев выбраться через борт, ныряли до самого дна, поднимались на поверхность воды и снова ныряли, обследуя весь объем ванны и не отдыхали в течение всего периода наблюдения. Контрольные животные, как обычно, плавали в течение периода наблюдения и активно, и пассивно (эпизоды иммобилизации), но не пытались выбраться. Таким образом, в плавательном тесте Порсолта поведение крыс, получивших Р-07, нестандартно. В отличие от антидепрессантов, под влиянием которых животные стараются продержаться в воде за счет активного плавания, Р-07 мобилизует ориентировочно-двигательную реакцию, рассудочное (экстраполяционное) поведение животных, и они активно ищут выход из аверсивной ситуации, то-есть кардинально решают задачу избавления. В плавательном тесте Порсолта проявилось выраженное стресс-протективное действие Р-07. Таким образом, белково-пептидный препарат, выделенный из омелы белой, на основании представленных результатов, по фармакологическому действию можно отнести к избирательным анксиолитикам - противотревожным веществам с ноотропными свойствами. Важным компонентом стресс-протективного и ноотропного действия Р-07 являются его антигипоксантные свойства: антигипоксантный эффект Р-07 сравним с эффектом бемитила.

Итак, в результате проведенного исследования впервые установлено, что белково-пептидные препараты, выделенные из растений - омелы белой (Р-07) и пшеницы (ПО-5) при системном введении животным оказывают нейрорепрогенеративное действие, проявляющееся в

положительном влиянии на обучение, снижении тревожности, выраженном стресс-протективном действии при остром и длительном стрессе., мобилизирующем влиянии на когнитивные функции мозга в стресс-ситуации. Р-07 и ПО-5, судя по доступной нам литературе, являются впервые полученными полипептидами растительного происхождения со свойствами избирательных анксиолитиков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И.П., Каменская М.А. Нейропептиды в синаптической передаче // Итоги науки и техники, серия "Физиология человека и животных. Т.34. М., ВИНТИ, 1988.
2. Бондаренко Н.А. Избирательное влияние нейролептиков на дофамин зависимое нарушение поведения крыс в тесте экстраполяционного избавления // Бюлл.эксп.биол.мед. 1990, Т.11, №11, С. 506 - 509
3. Быков В.А., Наймытенко Е.П., Абрамов В.А., Крашенинников О.А. Патент
4. Вальдман А.В. Пептиды как модуляторы моноаминергических процессов. // Фармакология нейропептидов. М., ИФ, 1982, С.9 - 30.
5. Корнева Е.А. Григорьев В.А., Клименко В.А., Столяров И.Д. Электрофизиологические феномены головного мозга при иммунных реакциях. Л. Наука. 1990. 148 С.
6. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М., Медицина, 1997.
7. Минеева М.Ф. Прямой спектрофотометрический метод определения скорости тирозингидроксилазной реакции // Вопр. Мед.химии, Т.22, №2, С. 374-279.
8. Минеева М.Ф., Карпова Л.Д. Способ оценки донозологических состояний по определению активности форм тирозингидроксилазы белых клеток крови. Патент РФ, приоритет от 02.06.98.
9. De Wied D. The neuropeptide concept, // Progr. In Brain Res. 1987, V. 72. P.93-108
10. Porsolt R.D., Anton G., Blavet N., Jalfre V. Behavior despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatment. // Eur. J. Pharmacol. 1978, V.47, P/379-391.
11. Steru L., Chermat R., Millet D. et al. Comparative study in mice of ten 1,4-benzodiazepines and clobasam: anticonvulsant, anxiolytic, sedative and myorelaxant effects. // Epilepsia 1986/ V. 27, Suppl.1. S.14-17.

BYKOV V.A., NAYMYTENKO E.P., MINEEVA M.F., KOLCHIR V.K.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

STRESS PROTECTING MNEMOTROPIC PEPTIDES FROM PLANTS

Neuropsychotropic properties of plant peptides were studied for peptides isolated from *Omela alba* and *Triticum*. It was shown that these peptides - R-07 and PO-5 at subcutane-

ously ingestion decrease anxiety, accelerate studying, have stress-protective effect in acute and prolonged stress-situations, activate cognitive functions in stress-situations. The peptides R-07 and PO-5 can be classified as selective anxiolitics.

ТРУМПЕ Т.Е., КОЛХИР В.К., ОМЕЛЬНИЦКИЙ П.П., КУЗНЕЦОВ Ю.Б., КРЕПКОВА Л.В., БОРТНИКОВА В.В., ВИЧКАНОВА С.А., ШКАРЕНКОВ А.А., КОМОЛОВ И.С.,
АБРАМОВА В.В., КУЧЕРЯНУ В.Г., СОКОЛОВ С.Я.

ВИЛАР, Москва, Россия

АБЕРГИН – НОВОЕ ОТЕЧЕСТВЕННОЕ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Последние годы характеризуются рядом открытий и проведением фундаментальных исследований, которые обогатили современную эндокринологию. В частности установлено, что в основе ряда нарушений менструального цикла у женщин, сопровождающихся бесплодием, лежат изменения гипоталамо-гипофизарной регуляции, ведущие к повышению секреции лактогенного гормона - пролактина и образованию микро- и макроаденом гипофиза. Динамичное определение гормонов в крови, функциональные пробы с гипоталамическими рилизинг-гормонами, радиоизотопные методы, компьютерная томография мозга позволили выяснить патогенез синдрома персистирующей лактореи-аменореи, распространенной формы бесплодия женщин. Были предложены оригинальные схемы лечения, основанные на восстановлении нормальной функции гипофиза лекарствами, тормозящими продукцию пролактина. Поскольку дофамин в организме очень быстро разрушается, были проведены поиски его агонистов с пролонгированным действием. Наиболее эффективным препаратом в клинической практике оказался алкалоид спорыньи - 2Вг- α -эргокриптин (бромкриптин, бромэргокриптин, СВ-154, провидел, парлодел), синтезированный фирмой Сандоз. В основе пролактинингибирующего влияния препарата лежит его непосредственное влияние на лактотрофы, сопровождающееся уменьшением секреции гормона [5]. Парлодел снижает базальный и стимулированный уровни пролактина в крови [15], инициирует дофаминергические рецепторы гипоталамуса [7], ингибирует синтез ДНК в лактотрофах [5], снижает активность дофамин- β -монооксигеназы в крови [16]. Однократный прием парлодела ингибирует секрецию

пролактина на 12 часов [13]. В 1978 году проведены клинические испытания парлодела в России, и препарат был разрешен к применению в разных областях медицины: эндокринологии (акромегалия, болезнь Иценко-Кушинга), акушерстве и гинекологии (послеродовая лакторей, синдром галактореи-аменореи, нарушении функций яичников, бесплодие, обусловленное гиперпролактинемией), андрологии (гипогонадизм), онкологии (пролактинзависимые опухоли), неврологии (паркинсонизм, хорей Гентингтона).

Во Всероссийском НИИ лекарственных и ароматических растений разработан препарат “Абергин” – аналог парлодела, из отечественного лекарственного сырья - спорыньи эргокриптового штамма - *Glarceps purpureae* (Fries) Tulasne. Абергин (2-бром, альфа, бета - эргокриптонов мезилат) представляет собой сумму двух структурных изомеров - производных эргокриптина, находящихся в смеси практически в равном соотношении (1/1).

Если вопросы фармакологического изучения одного из изомеров - 2 -бром-альфа эргокриптина (парлодел), как специфического агониста дофаминергических рецепторов типа Д-2 освещены в литературе достаточно широко [8, 10, 11], то информация относительно другого изомера в ней отсутствует. В печати имеются лишь единичные сообщения о β-эргокрипине, из которых можно сделать заключение о наличии у него активности, сходной с таковой у альфа-эргокриптина [12]. Данных о фармакологической активности смеси бромированных производных альфа и бета-эргокриптинов в литературе не найдено.

ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АБЕРГИНА.

Исследование пролактинингибирующей активности абергина было проведено на модели первичной культуры клеток аденогипофизов крыс и в системе на чистотлинейных крысах Вистар. Секреторную активность клеток аденогипофиза в культуре изучали путем радиоиммунологического определения содержания пролактина крыс в среде культивирования [4]. Исследованиями установлено, что абергин относится к группе агонистов дофамина. Уже в сравнительно малых концентрациях (10 нг/мл) он вызывает достоверное угнетение секреции пролактина в первичных монослойных культурах клеток аденогипофизов крыс, указывающее на непосредственное влияние его на функцию аденогипофиза (табл. 1), что является подтверждением литературных данных о прямом действии эргоалколоидов на дофаминчувствительные рецепторы [8, 11]. Абергин препятствует стимулирующему влиянию тиролиберина и дибутил-ц-АМФ на функцию лактотрофов, выступая в качестве конкурента специфических и неспецифических стимуляторов секретирующих пролактин.

Таблица 1

Влияние абергина и дофамина на 2-часовую секрецию пролактина в культурах клеток адено-

гипофизов самок крыс

№№ п/п	Экспериментальные группы	Содержание пролактина в среде (нг/мл)		
		n	M±m	P
Опыт № 1				
1.	Контроль	8	799±67	
2.	Дофамин,200 нг/мл	6	374±79	1-2 < 0,01
Опыт № 2				
1.	Контроль	6	780±133	1-2 < 0,001
2.	Абергин, 100 нг/мл	6	227±18	1-3 < 0,001
3.	Абергин, 1000 нг/мл	6	242±38	1-4 < 0,01
4.	Тиролиберин, 100 нг/мл	6	1890±114	4-5 < 0,01
5.	Абергин, 1000 нг/мл	6	501±51	1-5 > 0,05
Опыт № 3				
1.	Контроль	6	265±10,5	1-2 < 0,001
2.	Абергин, 10 нг/мл	4	195±15	1-3 < 0,001
3.	Абергин, 100 нг/мл	6	154,5±12	1-4 < 0,01
4.	Дибутирил-ц-АМФ, 5 ц М	6	393±27	1-5 < 0,001
5.	Дибутирил-ц-АМФ + Абергин, 100 нг/мл	6	195±19,5	4-5 < 0,001

При пероральном введении препарата крысам в дозах 0,5 мг/кг и 1 мг/кг (табл.2) уже через 4 часа происходит снижение уровней пролактина в крови, которое сохраняется на протяжении 24 часов, тогда как для парлодела продолжительность действия установлена 12 часов. При длительной 7-14 дневной обработке животных абергином возникают глубокие изменения функции лактотрофов гипофиза со снижением уровней пролактина в крови до минимально определяемых концентраций.

Таблица 2

Влияние абергина в дозе 1 мг/кг массы тела на содержание пролактина в сыворотке крови самок крыс в зависимости от срока воздействия

№ № п/п	Эксперименталь- ные группы	Время после введе- ния, часы	Содержание пролактина в сыворотке		
			n	M±m	P
1.	Контроль	2	5	13,7±4,1	
2.	Абергин	2	8	6,2±0,55	>0,05
3.	Контроль	4	5	34,8±11,4	
4.	Абергин	4	8	7,3±1,4	<0,05
5.	Контроль	6	5	43,0±3,7	

6.	Абергин	6	8	$5,4 \pm 0,46$	$<0,001$
7.	Контроль	24	5	$14,1 \pm 4,9$	
8.	Абергин	24	8	$8,6 \pm 1,4$	$<0,05$

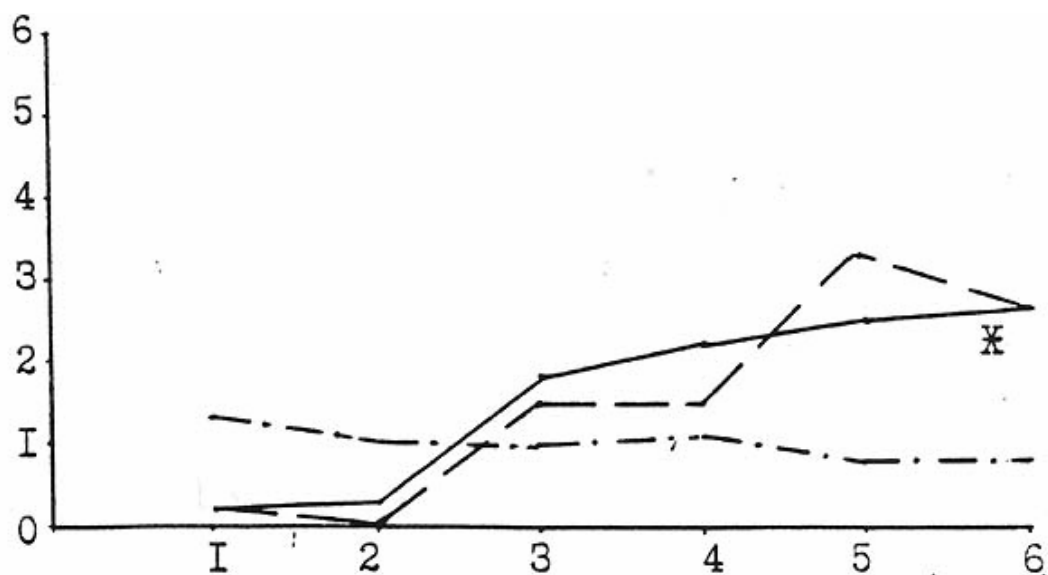
Таким образом, абергин обладает значительно большей статистически значимой продолжительностью пролактинингибирующего эффекта, чем парлодел.

При изучении нейротропной активности абергина, в основу выбора одних из наиболее адекватных методик изучения центральной дофаминергической активности абергина был положен тот факт, что причиной патологии при паркинсонизме являются дегенеративные изменения нигростриатных дофаминергических нейронов, приводящих к резкому уменьшению концентрации дофамина в стриатуме. В соответствии с этим использовали методику ротационных движений и модель паркинсонизма у крыс, возникающих после соответственно одно- и двухстороннего поражения дофаминергических нигростриатных нейронов путем введения в компактную зону черной субстанции среднего мозга специфического нейротоксина 1-метил-4-фенилпиридиния.

Как показали исследования, на 3 сутки после интранигрального введения нейротоксина у всех опытных животных наблюдали резкое замедление двигательной активности (олигокинезия), повышение мышечного тонуса конечностей и туловища, периодически отмечался мелкоамплитудный тремор головы и передних лап. Абергин и препарат сравнения - парлодел, снижали олигокинезию и ригидность у крыс с паркинсоническим синдромом, причем эффект абергина был несколько более продолжительным. Оба препарата увеличивали общее число контралатеральных ротаций приблизительно в равной степени (Рис.1).

Число контралатеральных
ротаций

10 мл/кг



Число контралатеральных
ротаций

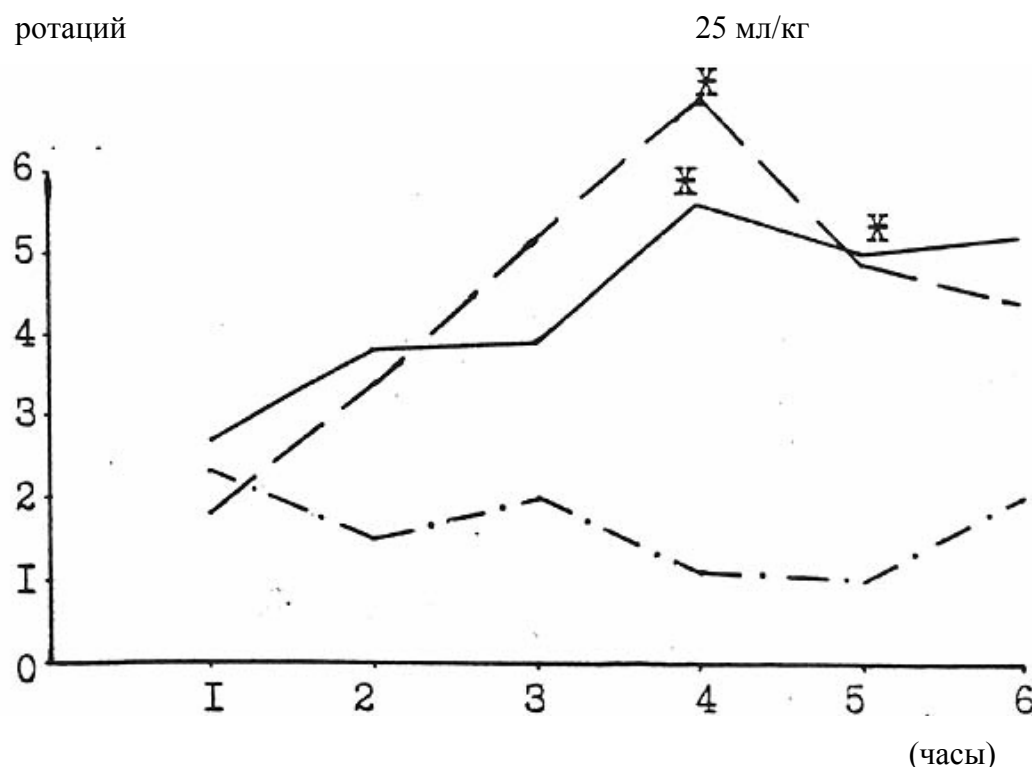


Рис.1 Влияние абергина и парлодела при подкожном однократном введении на ротационную активность после одностороннего поражения нигростриатного тракта у крыс.

—— абергин
 — — — бромокриптин
 — . — контроль

Сравнительное изучение влияния абергина и парлодела на сердечно-сосудистую систему показало, что оба препарата вызывали сходные изменения показателей гемодинамики, приводившие к умеренной брадикардии, снижению артериального давления, уменьшению кровотока в конечностях. Оба препарата не вызывали патологических изменений электрокардиографических показателей и обладали сосудосуживающим действием в отношении периферических сосудов.

Изучение гемокоагуляционных свойств абергина, проведенное по общепринятым методикам [2] в условиях опытов *in vitro* и при внутривенном введении кроликам в дозах 0,1 и 0,5 мг/кг показало, что препарат оказывает небольшое прямое стимулирующее влияние на процесс свертывания крови. В тоже время, при введении абергина внутрь кроликам в дозе 1 мг/кг наблюдалась умеренная гипокоагуляция, что может быть связано с его нейрогуморальным эффектом, реализуемым, в частности, через ингибирование активности кортикостероидов, обладающих гиперкоагуляционными свойствами [6].

Фармакокинетика абергина.

С фармакокинетических позиций, соединения, относящиеся к классу эргоалкалоидов, за последние годы изучены достаточно хорошо. Было доказано, что парлодел после приема внутрь имеет высокий процент всасывания (65-95%), быстро распределяется по органам и тканям, подвергается интенсивному метаболизму в печени с образованием более 10 метаболитов. Максимальная концентрация парлодела в плазме или крови достигается в течение 1-3 часов. Следует также отметить относительно высокое содержание препарата в гипофизе. Парлодел выводится, преимущественно, с желчью в виде метаболитов (до 90%), примерно 7% выводится с мочой. Время полуэлиминации парлодела 3-6 часов, а его главных метаболитов от 7 до 70 часов [9, 14].

Работу по изучению фармакокинетики абергина проводили в два этапа. На первом этапе изучали процесс абсорбции вещества в условиях опыта *in vitro*, используя аппарат моделирования процесса абсорбции фирмы Сарториус (Германия). На втором этапе проводили исследования распределения абергина в органах и тканях, используя радиоизотопный (H^3) метод. Меченый тритием (H^3) абергин получали методом термической активации изотопа на вольфрамовой спирали. В результате проведенных экспериментов установлено, что абергин, после введения внутрь, быстро всасывается (период полураспада меньше часа) из желудочно-кишечного тракта. Этот факт подтвердили и модельные опыты *in vitro*. Биодоступность составляла от 28 до 52% от введения дозы. Меченое вещество быстро распределялось по органам и тканям - наибольшее его количество (в пересчете на 1 г массы органа) определялось в печени, почках, гипофизе, надпочечниках, выводилось с желчью и мочой (период полураспада для крыс - 91 час, для кроликов - 13 часов) (Рис. 2). Таким образом, фармакокинетика абергина по ряду показателей подобна фармакокинетике парлодела.

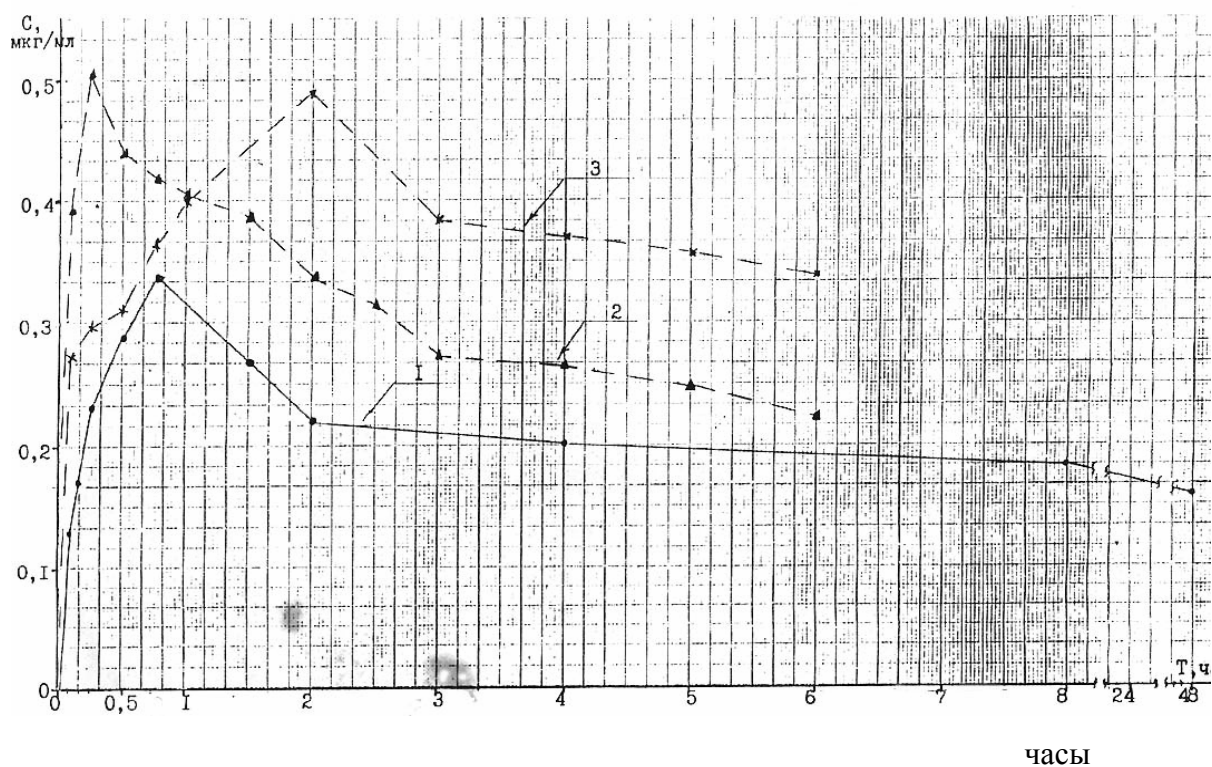


Рис. 2 Кинетика абергина – H^3 в крови крыс (1) и кроликов (2 и 3) после однократного перорального введения в дозе 1 мл/кг.

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АБЕРГИНА.

Доклиническое изучение безопасности абергина включало исследование общетоксического действия препарата и специфических видов токсичности [1]. Общетоксическое исследование абергина проведено в условиях однократного и длительного введения лабораторным животным. При однократном внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении белым беспородным мышам и крысам обоего пола показано, что абергин можно отнести к классу малотоксичных веществ: среднесмертельные дозы абергина при внутрибрюшинном введении мышам и крысам находились в пределах 175-314 мг/кг, а при введении в желудок - более 4000 мг/кг. Мыши были более чувствительны к действию препарата, чем крысы. Не отмечено половых различий в реакции животных на однократное введение абергина.

Токсичность абергина при длительном введении в желудок изучали в 30-недельном эксперименте на белых беспородных крысах (самцы и самки) в дозах 1, 10 и 100 мг/кг массы тела. Максимальная из примененных доз в ≈ 250 раз превышала суточную терапевтическую, рекомендованную для человека. Установлено, что при 30-недельном введении абергина в больших дозах (10 и 100 мг/кг) у животных наблюдалось кратковременное двигательное возбуждение, судороги, носовые кровотечения. На протяжении всего хронического эксперимента зарегистрировано дозозависимое снижение прироста массы тела крыс-самок, при этом не

отмечено влияния абергина в испытанных дозах на динамику массы тела крыс-самцов. В течение первых 8 недель у крыс-самцов наблюдалось снижение количества эритроцитов, уровня гемоглобина, содержание общего холестерина сыворотки крови по сравнению с показателями в контроле, стабильное снижение уровня триглицеридов на протяжении всего эксперимента. У всех крыс (самцы и самки), получавших препарат в дозах 10 и 100 мг/кг, на 8 и 16-й неделе опыта отмечено понижение активности аспартатаминотрансферазы сыворотки крови. Электрокардиографические исследования, проведенные на 8-й неделе, выявили брадикардию, характеризующуюся удлинением интервалов R-R и T-P, у крыс самок и самцов, получавших препарат в дозе 100 мг/кг. Однако к концу эксперимента показатели ЭКГ нормализовались. Указанные изменения активности аспартатаминотрансферазы и показателей ЭКГ свидетельствуют о специфическом действии препарата на функциональное состояние сердца экспериментальных животных.

Абергин в испытанных дозах не оказывал токсического действия на мочевыделительную систему животных.

В конце хронического эксперимента (30-я неделя) установлено дозозависимое снижение массы гипофиза у крыс, самцов и самок, получавших препарат в дозах 10 и 100 мг/кг, что по-видимому, связано со специфическим влиянием препарата на переднюю долю гипофиза.

Изучение безопасности готовой лекарственной формы абергина – таблеток по 0,004 г, при 30-недельном введении собакам (самцы и самки) в желудок в дозе 3 мг/кг (8-кратная суточная терапевтическая доза), не выявило каких-либо нарушений, свидетельствующих о токсическом действии абергина: препарат не влиял на общее состояние, поведение и динамику массы тела, гематологические и биохимические показатели животных, за исключением более низкого уровня триглицеридов у собак-самцов и активности аспартатаминотрансферазы на протяжении всего эксперимента у собак обоего пола.

Изучение эмбриотоксических и тератогенных свойств абергина на белых беспородных крысах при введении в желудок с 6 по 16-й день беременности в дозах 1,0 и 10,0 мг/кг выявило снижение количества беременных крыс и увеличение предимплантационной гибели, что было расценено как антиимплантационный эффект, в связи со способностью эргоалкалоидов спорыньи повышать тонус миометрия. Абергин в дозе 100 мг/кг при введении его в те же сроки беременным крысам оказывал эмбриотоксическое действие, характеризующееся снижением массы и уменьшением краниокаудального размера тела 20-дневных плодов, а также задержкой процессов ossификации костей эмбрионов. При введении препарата с 8 по 16-й день беременности в дозах 1,0 и 10,0 мг/кг не выявлено эмбриотоксических и тератогенных эффектов. При изучении постнатального развития потомства, подвергавшего в анте-

натальном периоде развития воздействию абергина в дозе 10 мг/кг с 8-го по 19-й день беременности, не отмечено влияния препарата на количество новорожденных крысят в помете, их массу тела и смертность на протяжении первых 4 недель жизни по сравнению с контролем. При вскрытии 28-дневных крысят-самцов, получавших в антенатальном периоде развития абергин, установлено достоверное увеличение коэффициента массы семенников, по сравнению с контролем.

У абергина не выявлено местнораздражающих и сенсibiliзирующих (конъюнктивальная проба, реакция общей анафилаксии и реакция активной кожной анафилаксии) свойств. Абергин не обладает иммуномодулирующим действием (показано в опытах по определению антителообразующих клеток в селезенке и титру гемагглютининов в сыворотке крови экспериментальных животных; в реакциях гиперчувствительности замедленного типа и “трансплантат против хозяина”).

Изучение мутагенных свойств абергина (тест Эймса, учет доминантных летальных мутаций и учет хромосомных aberrаций) показало, что препарат не индуцирует генетических нарушений у микроорганизмов, в клетках костного мозга и зародышевых клетках млекопитающих.

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ АБЕРГИНА.

Клинические исследования абергина проводили в соответствии с решением Фармакологического Государственного комитета МЗ РФ в двух ведущих клинических учреждениях - на Кафедре эндокринологии ММА им. И.М.Сеченова и в Институте клинической эндокринологии ВЭНЦ РАМН на 92 больных в возрасте от 19 до 46 лет. Клиническое исследование препарата абергин включало больных с различными заболеваниями гипоталамо-гипофизарной системы, лечение которых требует подавления секреции ряда тропных гормонов (пролактина, СТГ, АКТГ). Назначение препарата приводило к достоверному снижению уровня пролактина при гиперпролактинемических состояниях различного генеза и соматотропного гормона у больных с акромегалией и при синдроме гиперпролактинемического гипогонадизма, при этом отмечался положительный клинический эффект. Абергин разрешен Минздравом РФ к медицинскому применению в качестве дофаминергического средства и успешно применяется в клиниках ЭНЦ РАМН последние 8 лет. Применение абергина позволило накопить данные и получить дополнительные результаты по лечению абергином бесплодия на фоне микроаденомы гипофиза. Как показала практика, беременность на фоне лечения абергином наступала у 20% женщин и заканчивалась благополучными родами с рождением здоровых детей [3].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, фармакологическое и клиническое изучение абергина - нового оригинального отечественного лекарственного средства растительного происхождения, показало, что препарат стимулирует дофаминергические рецепторы в гипоталамусе и относится к группе агонистов дофамина. Взаимодействуя с дофаминергическими рецепторами клеток гипоталамуса, абергин оказывает тормозящее влияние на секрецию гормонов передней доли гипофиза, и прежде всего пролактина. Абергин также способен снижать повышенные уровни гормона роста у больных, страдающих акромегалией. Сочетание в абергине двух эргоалколоидов обусловило более продолжительную пролактинингибирующую и нейротропную активность препарата по сравнению с парлоделом. Бета-изомер более липофильный, чем альфа-изомер, и, как было установлено при моделировании процессов абсорбции в эксперименте, при пероральном приеме он всасывается из кишечника медленнее, чем парлодел, активная концентрация препарата в плазме крови достигается более плавно и он более длительно удерживается в тканях и органах. абсорбции в эксперименте. Это объясняет хорошую переносимость препарата и менее выраженное гипотоническое действие по сравнению с парлоделом.

Абергин показан к применению при опухолях гипофиза (пролактиномах, соматотропиномах, смешанных аденомах), ановуляторных циклах, нарушении менструального цикла, бесплодии, склерокистозе яичников, для подавления лактации при тяжелых септических маститах, а также при акромегалии и для лечения паркинсонизма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арзамасцев Е.В., Гуськова Т.А. и др. (1998) Ведомости фармакол. комитета, №1, с. 27-32.
2. Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д. и др. (1980). Лабораторные методы исследования системы гемостаза. Москва, "Медицина"
3. Дзеранова Л.К. Синдром гиперпролактинемии, успехи медикаментозной терапии. в кн. под ред. Маровой Е.И. (1999) Нейроэндокринология, с.201-241.
4. Комолов И.С., Морозова Л.Г. и др. Бюлл. экспер. биол. и медицины. №2, с.215-217.
5. Комолов И.С., Федотов В.П. и др. (1988) Бюлл. экспер. биол. и медицины. № 4, с. 481-482.
6. Сергеев П.В., Сейфулла Р.Д., Майский А.И. (1974) Физико-химические механизмы и гормональная регуляция свертывания крови. М. Наука.
7. Boyd A., Reichlin S. (1975) New Engl. J. Med. V.293, P. 451-452.
8. Corrodi H., et al. (1973) Pharm. Pharmacol. V.25, P.409-411.
9. Eckert H., Kiechel J., et al (1978) Ergot Alkaloids and Related Compounds. 719-803.

10. Johnson A. et al. (1974) Arch. exp. Rath. Pharmacol. V.282, Suppl.R10.
11. Johnson A., et al. (1976) Br. J., Pharmacol. V.56, P.59-68.
12. Johnson F. et al. (1973) Experientia V.29, №6, P.763.
13. Pozo E., Brun R., Varga L., Friesen H. (1972) J. Clin. Endocrinol. №35, P.768-771.
14. Schran H., Bhuta S. et al. (1980) Advan. in Biochem. Psychopharm. V.23, P.125-139.
15. Tolis G., Somma M., Compenhout Y. (1974) Amer. J. Obstet. Gynecol. V.118, P.91-101.
16. Tyson J., Andreasson B., Ruth J. (1975) Obstet. and Gynecol. № 46, P.1-11.

Trumpe T.E., Kolkhir V.K., Omelnitskiy P.P., Kuznecov Yu.B., Sokolskaya T.A., Krepkova L.V., Bortnicova V.V., Vichkanova S.A., Shkarencov A.A., Komolov I.S., Abramova V.V., Kucheryanu V.G., Sokolov S.Ya.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

ABERGIN – THE NEW NATURAL DOPHAMINERGIC MEDICINE

Researches of drug Abergin were carried out. Abergin put on secretion of the hormones anterior lobe of hypophysis and first of all prolactin. Drug reduces abnormally level the growth hormone of acromegaly patients. Abergin possesses more long prolactin depressive and neurotropic action, than parlodel. It is the little toxic drug. Abergin shows less strong hypotensive action, than parlodel. It proposed to use for the treatment hypophysis tumours and different gynecological diseases.

ВИЧКАНОВА С.А., ШИПУЛИНА Л.Д., ФАТЕЕВА Т.В., КОЛХИР В.К.,
БОРТНИКОВА В.В., КРЕПКОВА Л.В., КУЗНЕЦОВ Ю.Б., ГЛЫЗИН В.И.,
СМИРНОВА Л.П., КРУТИКОВА Н.М.

ВИЛАР, Москва Россия

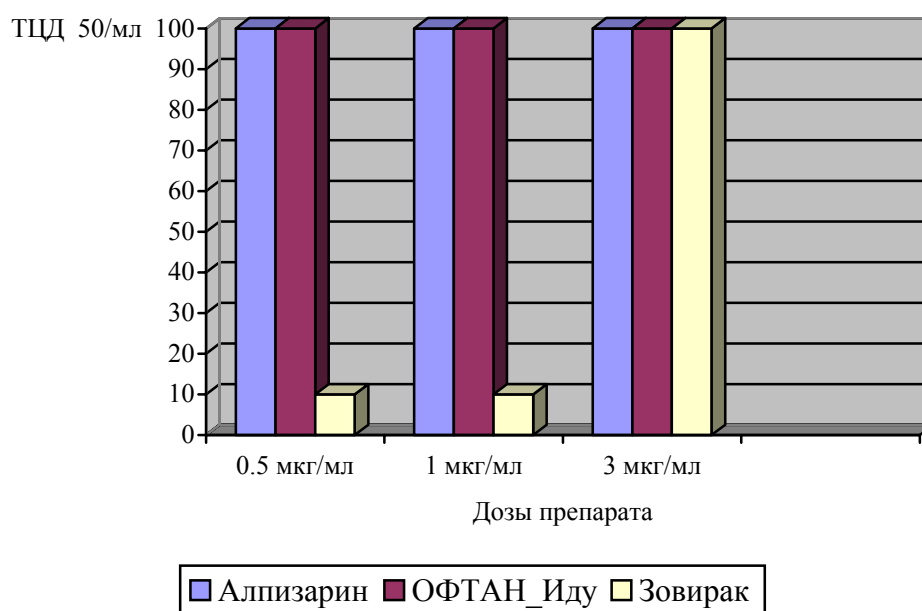
АЛПИЗАРИН – ЭФФЕКТИВНОЕ ПРОТИВОВИРУСНОЕ СРЕДСТВО, ВЫДЕЛЕННОЕ ИЗ РАСТЕНИЙ РОДА *FABACEAE* И *ANACARDIACEAE*

Алпизарин – это флавоноидное соединение, выделенное из растений семейства бобовых (*Fabaceae-Leguminosae*) или из листьев манго (*Mangifera indica L*) семейства сумаховых (*Anacardiaceae*). По химической структуре алпизарин является природным индивидуальным соединением ксантоновой природы состава $C_{19}H_{18}O_{11}$ (мангиферин) (3, 6).

При экспериментальных исследованиях установлено, что алпизарин подавляет репродукцию вируса герпеса – *Herpes simplex* и *Varicella zoster*, уменьшает выделение вируса из клеток. Алпизарин является эффективным средством для лечения герпеса и ветряной оспы (5).

Прямое ингибирующее действие алпизарина на вирус герпеса изучали в опытах *in vitro* на культуре первично трипсинизированных фибробластов куриных эмбрионов, заражавшихся разными лозами 4-х различных штаммов вируса простого герпеса. Установлено отчетливое вирусингибирующее действие алпизарина в широком диапазоне доз (от 20 до 0,5 мкг/мл). По выраженности противовирусного эффекта в данных условиях экспериментов алпизарин равен препарату «Офтан-иду» и в 6 раз более активен, чем препарат «Зовиракс» (рис.1).

Рис.1. Сравнительное изучение вирусингибирующей эффективности АЛПИЗАРИНА, ОФТАН-ИДУ и ЗОВИРАКСА в отношении вируса герпеса



При экспериментальном исследовании влияния алпизарина на другие вирусы установлено, что в культуре диплоидных клеток человека препарат в дозе 100 мкг/мл полностью подавлял репродукцию 10000 инфекционных доз цитомегаловируса; в экспериментах на перевиваемых культурах Т-лимфоцитов человека с использованием вируса иммунодефицита человека 1 типа алпизарин в концентрации 50 мкг/мл почти полностью ингибировал вирусную продукцию ВИЧ (вируса СПИД).

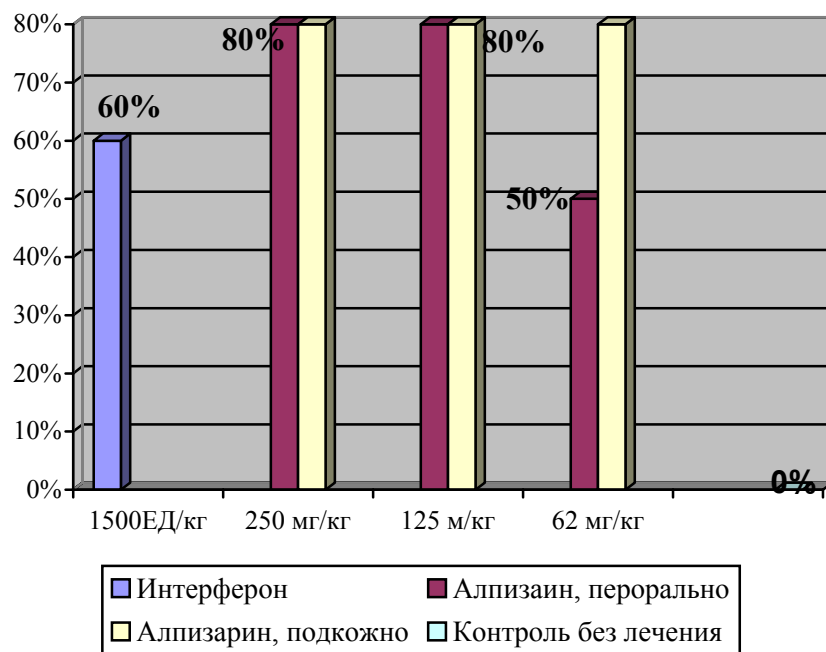
С целью исследования возможных механизмов прямого противовирусного действия алпизарина изучали его влияние на активность внеклеточной стафилококковой нуклеазы (ДНК-азы) и вирусной нейраминидазы. Установлено, что в изученных концентрациях (5, 20, 100 мкг/мл) алпизарин на 23, 49, 56%, соответственно, подавлял в опытах *in vitro* активность ДНК-азы и не влиял на активность нейраминидазы (ссылки).

Система интерферона является основным барьером на пути вирусной инфекции. Активная выработка интерферона способствует устойчивости организма к вирусным заболеваниям и быстрой локализации очага инфекции. В экспериментах *in vitro* установлено, что алпизарин в концентрациях 10 и 100 мкг/мл вызывает выработку интерферона типа гамма клетками крови доноров и клетками крови больных рецидивирующим герпесом в концентрации 50 мкг/мл. По активности в данном направлении алпизарин не уступает известному индуктору интерферонообразования стафилококковому эндотоксину типа А (СЭА). Таким образом, алпизарин не только обладает прямым действием на вирус, но и обладает способностью индуцировать продукцию гамма-интерферона в клетках крови.

Исследование химиотерапевтического действия алпизарина при доклиническом изучении проводили в экспериментах на животных. На модели герпетического энцефалита белых мышей установлено отчетливое лечебное действие алпизарина при его ежедневном пероральном введении в диапазоне доз от 500 до 4 мг/кг. Наиболее выраженный эффект препарата наблюдали в условиях начала лечения, за 2 суток или 1 сутки до заражения, когда достигалось повышение выживаемости животных на 20, 30, 40%%, в зависимости от дозы. При увеличении кратности введения алпизарина с 1 до 2 раз в день его лечебный эффект усиливался. В этих условиях оптимальные терапевтические дозы препарата находились в интервале 100-4 мг/кг. По выраженности терапевтического действия в условиях модели герпетического энцефалита алпизарин при пероральном и подкожном введении в интервале доз 250-62 мг/кг не уступал интерферону в дозе 1500 ЕД/кг (подкожно) или был более активен (в зависимости от дозы) – (рис.2).

Антимикробные свойства алпизарина изучали в экспериментах *in vitro* в стандартных условиях, принятых для скрининга антимикробных средств. Установлено, что алпизарин ингибировал рост туберкулезных микобактерий и патогенных простейших рода *ENTAMOEBA* и *TRICHOMONAS* (МИК - 15,6-62,5мкг/мл), а также патогенных грамположительных и грамотрицательных бактерий рода *STAPHYLOCOCCUS*, *ESCHERICHIA* (МИК - 500 мкг/мл).

Рис.2. Выживаемость мышей в условиях модели герпетического энцефалита



При изучении фармакологических свойств алпизарина в экспериментах *in vivo* установлено умеренное противовоспалительное (противоотечное) и слабое кардиотоническое действие препарата. В условиях модели кофеиново-мышьяковистых язв найдено его стимулирующее влияние на репаративные процессы в слизистой оболочке желудка.

С использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии проводили количественное определение содержания алпизарина в плазме крови и моче человека после однократного приема внутрь средней суточной дозы препарата (600 мг). Установлено, что алпизарин быстро всасывался из желудочно-кишечного тракта, в крови неизмененный препарат определялся в концентрациях 0,05-4,5 мкг/мл в течение 0,5-5 часов после применения. Максимум концентрации препарата – 4,5 мкг/мл достигался через 1 час после его применения. Экскреция алпизарина с мочой не превышала 0,1%. Метаболиты алпизарина не найдены. С использованием метода равновесного диализа установлено, что алпизарин в значительной степени (90-70%) связывается с белками сыворотки крови. По мере повышения концентраций препарата увеличивается доля не связанной с белками фракции.

По показателям токсичности при однократном внутрибрюшинном и внутривентрикулярном способах введения белым мышам, крысам и морским свинкам в соответствии с классификацией принятой в РФ и ВОЗ, алпизарин относится к малотоксичным веществам (1). Среднесмертельные дозы препарата при внутрибрюшинном введении указанным видам лабораторных животных для самцов и самок, соответственно, составляют 1385-1250 мг/кг

(мыши), 780-730 мг/кг (крысы) и 650 –620 мг/кг (морские свинки). При введении алпизарина в желудок показатели токсичности увеличиваются и колеблются в пределах 13000-15000 мг/кг. При этом не установлено видовых и половых различий в чувствительности лабораторных животных к препарату. В картине острого отравления алпизарином в дозах близких к LD_{50} , преобладали симптомы угнетения центральной нервной системы. При исследовании кумулятивных свойств алпизарина установлена хорошая переносимость препарата в дозах, значительно превышающих среднесмертельные, что свидетельствует об отсутствии у алпизарина кумулятивных свойств. Коэффициент кумуляции равен 3,21(по Лиму). Результаты исследования токсичности препарата в условиях подострого эксперимента, при введении алпизарина в желудок белым крысам в дозах 50, 500 и 1500 мг/кг(превышающие в 5, 50 и 150 раз терапевтические дозы, рекомендованные для человека) в течение 4 недель, подтвердили низкую токсичность и хорошую переносимость препарата лабораторными животными, установленную в «остром» эксперименте.

Исследование хронической токсичности алпизарина проводили при его ежедневном внутримышечном введении в течение трех месяцев. При введении 10,100 и 500 мг/кг отмечено седативное действие препарата, выражающееся в снижении двигательной активности лабораторных животных (метод «открытого поля») и суммационно-подпорогового показателя (СПП); введение в дозах 100 и 500 мг/кг вызывало увеличение в 2 раза опсонофагоцитарного индекса, что может свидетельствовать о наличии у препарата иммуностимулирующих свойств. Алпизарин не оказывал повреждающего действия на периферическую кровь, функциональное состояние печени, сердца и почек экспериментальных животных. Патогистологические исследования, проведенные в конце хронического опыта, подтвердили отсутствие токсического действия алпизарина на внутренние органы экспериментальных крыс. Изучение безопасности готовой лекарственной формы алпизарина (таблетки по 0,1 г), при введении в желудок собакам показало, что препарат не изменял основные интегральные показатели животных, гематологические (количество эритроцитов, их диаметр и осмотическая резистентность, количество лейкоцитов, тромбоцитов, ретикулоцитов и уровень гемоглобина), биохимические показатели (уровень общего белка и холестерина) и активность некоторых ферментов сыворотки крови (аланин-, аспартатаминотрансферазы, ацетилхолинэстераза, лактатдегидрогеназа, фруктозо-1,6-дифосфата альдолаза), а также параметры бромсульфалеиновой пробы. При патоморфологическом исследовании внутренних органов собак, получавших таблетки алпизарина, не установлено токсического действия препарата.

Для алпизарина исследовали также специфические виды токсичности: эмбриотоксичность, аллергенность, мутагенность, и иммунотоксичность.

При введении алпизарина в желудок беременным крысам в дозах 100 и 500 мг/кг, превышающих рекомендованные для человека в 50 и 100 раз, с 1 по 19 день беременности выявлены эмбриотоксические свойства, проявляющиеся в снижении массы тела беременных крыс, торможении процесса оксификации скелета плодов, увеличении гибели потомства и снижении их массы тела в течение первого месяца жизни. Алпизарин при введении крысам в дозе 10 мг/кг, рекомендованной для человека в качестве лечебной, на протяжении всей беременности не оказывал эмбриотоксического и тератогенного эффектов. В опытах на морских свинках-альбиносах в тестах пассивной кожной анафилаксии, реакции непрямой дегрануляции тучных клеток и реакции гиперчувствительности замедленного типа у препарата не выявлено сенсibiliзирующих свойств.

Изучение влияния алпизарина на гуморальный и клеточный иммунитет проводили в экспериментах на мышах линии СВА и белых крысах, иммунизированных оптимальной дозой эритроцитов барана. Установлено, что алпизарин при 5-кратном введении в желудок в интервале доз 10-100-500 мг/кг в 2,5-5 раз увеличивает число антителообразующих клеток в селезенке и в 3-7 раз увеличивает количество антител в крови. В условиях 4-недельного внутрижелудочного введения крысам в дозах 1, 10 и 100 мг/кг показано выраженное дозозависимое иммуностимулирующее действие алпизарина, которое выражалось значительным увеличением количества антителообразующих клеток селезенки до 113100 ± 192600 по сравнению с 39600 ± 2900 в контроле. Обратный титр гемагглютининов при этом составлял, соответственно, $8,0 \pm 1,3$, $7,6 \pm 0,6$, $16,0 \pm 0,1$ при контроле $3,7 \pm 0,3$. Полученные данные свидетельствуют о стимулирующем влиянии алпизарина на гуморальный иммунитет. Действие алпизарина в дозах 10 и 100 мг/кг (внутрибрюшинно или внутрь) на клеточное звено иммунитета оценивали по его влиянию на реакцию гиперчувствительности замедленного типа и «трансплантат – против хозяина». В изученных дозах препарат не оказывал существенного влияния на показатели выраженности клеточной иммунной реакции. В экспериментах *in vitro* алпизарин оказывал стимулирующее влияние на цитотоксические лимфоциты, в концентрации 1 мкг/мл он в 1,5-2 раза увеличивал образование Т-киллеров. Изучение потенциальных мутагенных свойств препарата в тесте анателофаза анализа в клетках костного мозга крыс, получавших в условиях хронического эксперимента алпизарин в дозах 10, 100 и 500 мг/кг, не выявило наличие у препарата мутагенных свойств.

Èä÷äáíúâ ñâíëñòââ äëëëçàðäëíà è äâí òäðâíñëíñòò ãëý áíëüíúð èçó÷äëë ï ðâðâíëþ Òàðíàëëëíäë÷âñëíâí Æíñóâäðñòââííâí Êíëëðòàò Ìëíçàðäââ ðíññë â 7 ëëëë÷âññëð ó÷ðââââíëýð. Èññëââíâíëý òðââââíú íà 562 áíëüíúð ñ äëðñííúë çââíëâââíëýíë êíæ è ñëëçëñòúð íâíëí÷âë, ñðââë êíòíðúð áúëí 224 âçðññëúð áíëüíúð (ÖÍËÊÆ, Êàðââðú êíæíúð áíëâçíâë ðÃÍÓ è Êëââñëíâí

iaaeoeineiaf enoeooba) и 338 aieuiuo aonnieiaf aicdanoa (lineianee aodiafne eaeaaif-eifnoeuoadeaiue oaiod i aonniee adiaofieae, Kaadaa aonnee aeaciae '1 DAIO, Kaadaa eiaiuo aeaciae DAIO, Oadaeae aiaofieae IEA AIO DAII). Aetecadei enneaiaae a odao eaeadoaaiuo oiaa: oaeaeoe n naadaeiae aetecadeia 0,1 a – aeuy ideiaiaey aioodu a eaeanoaa iofeaeedofiaf naanoaa iauadaicdaofiaf aaeoae; 5% iace aetecadeia – aeuy ideiaiaey ia eiaeo acdineui aieuiui и 2% iace aetecadeia – aeuy ideiaiaey ia eiaiuu nediau aoyi e ia neeeneoua iaief-e – acdineui e aoyi (2, 4).

Ndaae acdineui aieuiuo iniaiof adopo nnaaeuee aieuiua a aicdanoa io 17 ai 44 eao n daoeaeedofuei iofnoii adiafni (Herpes simplex) n daoeaeae 1-4 daa a iaay, aieoaeuiue e yefnoaiaoeaeuiue eieaeoae (daoeaeuiue, eiaa yiaeo e ad.) и опоясывающим лишаем (Herpes zoster). Диагноз подтверждали серологически и вирусологически. Кроме того небольшое количество больных было с бородавками. При всех локализациях простого острого и рецидивирующего герпеса у взрослых больных алпизарин назначали в виде монотерапии при комплексном применении его внутрь и наружно. Продолжительность курса лечения от 7 до 14 дней. Лечебный эффект от применения алпизарина проявлялся на 3-7 день в виде уменьшения воспалительных явлений, зуда, улучшения общего состояния, регресса высыпаний. При наблюдении за пролеченными алпизарином больными в течение 4 месяцев рецидивов не отмечено. При опоясывающем лишае и бородавках алпизарин применяли также в виде монотерапии, сочетая при этом прием таблеток внутрь (суточная доза – 0,1x3 раза, курс лечения от 10 дней до 1 месяца в зависимости от тяжести и длительности заболевания) с нанесением 5% мази на соответствующий очаг поражения 3-4 раза в сутки. Проведенные клинические исследования алпизарина при поражениях кожи, вызванных Herpes zoster, показали, что наилучший терапевтический эффект достигался при одновременном применении таблеток и мази: за короткий период времени полностью разрешались высыпания, исчезали воспалительные явления, подсыхали корочки, исчезала боль, болезнь не прогрессировала, при этом эффективность препарата возрастала в случае его применения на ранних стадиях заболевания. Применение алпизарина при опоясывающем лишае способствовало не только уменьшению воспалительных явлений и более быстрому заживлению, но и предупреждению развития осложнений в виде пиодермий.

Клинические исследования алпизарина у 338 стационарных больных детского возраста проводили при следующих нозологиях: простом герпесе (Herpes simplex), в том числе при острой и рецидивирующей формах, герпетической экземе Капоши, вирусных поражениях полости рта, а также при заболеваниях, вызванных Varicella zoster (опоясывающий лишай, ветряная оспа). Edia oiaf eiaeeu iaiaf-eieaiua iaapaaey ide iniea, aofe-afni aadiaoea e yefnoaadeaie ydeaia. Ieiaiaea aetecadeia aoyi в качестве противовирусного

[illegible][illegible]

Попытки применить алпизарин при других дерматозах как у взрослых, так и у детей, не дали существенных результатов. Так использование алпизарина при бородавках у 11 взрослых больных привело к положительному эффекту только у части больных (~30%) и ввиду малочисленности наблюдения это показание не было включено в инструкцию по применению.

Аутоимунные заболевания также являются противопоказанием для применения эрсода – ацикловир + интерферон. У детей, страдающих аутизмом, было отмечено снижение уровня иммуноглобулинов G-класса (IgG) на фоне приема препарата (в возрасте от 3 до 7 лет). Это связано с тем, что препарат подавляет выработку антител к различным антигенам организма, поэтому данное показание также не вошло в инструкцию.

Êëëíëòëñòù ìòíà÷àðò òíðíòóð ãäðáíñëíñòù àëìëçàðëíà áí ãñãò èçó÷áííüò èããäðñòááííüò òíðíàð: èàê ó âçððíñëüð, òàê è ó áíëüíüò äàòñëíáí áíçðàñòà ãäêòè÷ãñêè íà ñàáëóäàëüñ êàêèõ-ëèáî òíñêè÷ãñêèò ãðíãããíëè íàñòóíáí ðàäàêòàðà, á òí ÷ëñã àëëãäêèçêðòóðíëò ñáíëñòà, è ñå âûâëåíî îòêëîíåíèé ïî äáííûì êëèíèêî-ëàáîðàòîðíûõ áíàëèçîâ (êðîâü, ìî÷à, ïå÷å-íî÷íûå ïðîáû è äð.). Òîëüêî â îäíîì îò÷åòå (ÑÍÍÍ) áûëî ñäåëàíî çàìå÷áíå, ÷òî îò-äåëüíûå áîëüíûå (âçðîñëûå) ïðåäüâëåëè æàëîáû ñà ãîëîâíûå áîëè ïðè ïðèåìå áëèçàðèíà âíóòðü, îäíàêî ýòè ñàáëüðåíèå ñå áûëè ïðòâåðæäåíû äðóãèìè êëèíèêàìè.

Òàêèì ãäàçí, êëëë÷÷ãñêèì ñññãããíãíëëü àëìëçàðëíà ó 562 áíëüíüò áçððíñëíáí è äàòñëíáí áíçðàñòà ñ àëðòííé èíðãêòåáè ñêàçàêè ááí áññíëòó ÿððãêòèáíñòù, á ðüãá ñëó÷áá ãäããñòàðóòóð òðããêòèííí ñññëüçòáíüã ãðòèáíãêòóíüã ãðããðàðòù (áíãòòí è äð.), è íà óñòóãàðóèã àòëëëãêòó (çíãêòèñ) è äðòèè íããíëãã ÿððãêòèáíñòù ãðããðàðòù.

Íà ñññããèè óñòáíããíãíáí á êëëëêòó çíã÷÷òèáíñíáí èã÷ããíáí ÿððãêòà è òíðíãã ãäðáíñëíñòè á òðããíãòè÷ãñêèò áíçò Ìëíçäãáí ðíñêè ðçððòáí ãðëíáíëã àëìëçàðëíà ó áçððíñëüò è äàòè æëü èã÷ãíëü àëðòííüò èíðãêòèè, á òí ÷ëñã ñòòò è ðãòèããêòóðíëò òíðí ãðñòóíáí áðãíãáí ááíëòàëüíé è ÿñòðãããíëòàëüíé èíãêòèçòèè, áðãíãêòóíüã ÿáíëããíëè ñëççñòíé íáíë÷÷è ñññíòè ðà, áððóíé ññá è ññññãããñòù èòãã.

Таблетки алпизарина обычно назначают в комплексе с мазью. Таблетки применяют внутрь независимо от приема пищи. Взрослым и детям старше 12 лет назначают по 1-2 таблетки 3-4 раза, детям 6-12 лет – по 1 таблетке 2-3 раза, детям 1-6 лет – по 1/2-1 таблетке 2-3 раза в сутки. Мазь применяют местно 4-6 раз в сутки: взрослым назначают на кожу 5% мазь, детям – 2% мазь; на слизистые оболочки взрослым и детям – 2% мазь. Терапевтический эффект алпизарина наиболее выражен при его назначении в начальном периоде заболевания или рецидива. Курс лечения (от 3-5 дней до 3-4 недель) зависит от формы и тяжести заболевания. Так, при острых и рецидивирующих формах простого герпеса экстрагенитальной локализации при единичных высыпаниях мазь наносят на очаг поражения в течение 3-5 дней. В случае распространенных высыпаний, а также при наличии лихорадки, лимфаденопатии и других общих явлениях алпизарин применяют одновременно в таблетках и в виде мази в течение 5-14 дней. При герпетической экземе Капоши и цитомегаловирусной инфекции алпизарин применяют в тех же возрастных дозировках в течение 7-21 дня в комплексной терапии. При генитальном герпесе 2% мазь алпизарина наносят на пораженные участки от 4 до 6 раз в сутки в течение 7-10 дней. В случае рецидивирующего течения заболевания дополнительно назначают таблетки алпизарина в течение 5-14 дней. При рецидивах проводят повторные курсы лечения препаратом. Для профилактики рецидивов алпизарин назначают в таблетках через месяц после окончания лечения и затем в межрецидивные периоды курсами по 10-14 дней.

При вирусных заболеваниях слизистой оболочки полости рта алпизарин назначают внутрь в возрастных дозировках и одновременно наносят на пораженные участки слизистой оболочки полости рта 2% мазь алпизарина в течение 5-15 дней, при эрозивно-язвенной форме красного плоского лишая слизистой оболочки полости рта – в течение 2-4 недель. При заболеваниях, вызываемых *Varicella zoster* (опоясывающий лишай, ветряная оспа), проводят комбинированную терапию, включающую прием алпизарина внутрь (в возрастных дозировках) и местное применение 2% (детям) или 5% (взрослым) мази алпизарина на очаг поражения в течение 5-21 дня.

Преимуществами алпизарина являются его хорошая переносимость и высокая эффективность при вирусных заболеваниях у детей и взрослых, наличие иммуностимулирующих, интерферониндуцирующих и противовоспалительных свойств, а также отсутствие развития резистентности вирусов к препарату.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бортникова В.В. Сравнительная токсикологическая характеристика и новые фармакологические свойства антимикробных и противовирусных препаратов растительного происхождения. // Автореферат дисс. ... канд. биол. наук, Купавна, 1988 г., 21 С.
2. Бортникова В.В., Крепкова Л.В., Арзамасцев Е.В. Токсикологическая характеристика противовирусного препарата «Алпизарин» – ксантонового гликозида из копеечника альпийского. // Европейский симпозиум по применению лекарственных растений в современной терапии. – Прага, Чехословакия.- 1989.- С.14.
3. Бортникова В.В., Крепкова Л.В., Арзамасцев Е.В., Кузнецов Ю.Б., Татаурова Т.А., Белошапко А.А. Экспериментальное токсикологическое изучение противовирусного препарата алпизарина из копеечника альпийского. // Тез. Всесоюз. Научн. конф. «Новые лекарственные препараты из растений Сибири и Дальнего Востока».- Томск.- 1986.-С.23.
4. Вичканова С.А. Эффективность алпизарина при герпесвирусных заболеваниях у детей и взрослых. // Практическая фитотерапия.- 2000.- №1.- с.34-39.
5. Вичканова С.А., Шипулина Л.Д., Глызин В.И., Баньковский А.И., Пименов М.Г., Боряев К.И. Противовирусное средство алпизарин. // Авторское свидетельство №1336301 с приоритетом изобретения 22 марта 1974 г., Заявка №2009197. Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений СССР 8 мая 1987 г.
6. Самгин М.А. Современная медикаментозная терапия кожных проявлений рецидивирующего герпеса./ I Российский национальный конгресс «Человек и лекарство».- 12-16 апреля 1992 г.- Москва.- 295.

7. Шипулина Л.Д., Вичканова С.А., Нестерчук С.Д., Покидышева Л.Н. Антивирусные свойства алпизарина./ I Российский национальный конгресс «Человек и лекарство».- 12-16 апреля 1992 г.- Москва.- 300.
8. Шипулина Л.Д., Глызин В.И., Быков В.А., Вичканова С.А., Фатеева Т.В. Средство, обладающее действием против инфекционных агентов. // Патент №2092177 на изобретение с приоритетом от 19 августа 1994 г., Заявка №94030999 от 19 августа 1994 г. Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений 10 октября 1997 г.

VICHKANOVA S.A., SHIPULINA L.D., FATEEVA T.V., KOLKHIR V.K., BORTNIKOVA V.V., KREPKOVA L.V., KUZNECOV U.B., GLIZIN V.I., SMIRNOVA L.P., KRUTIKOVA N.M.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

ALPIZARIN - EFFECTIVE ANTIVIRAL DRUG OBTAINED FROM PLANTS OF A SORT FABACEAE AND ANACARDIACEAE

Alpizarin - antiviral drug obtained from *Hedysarum alpinum* L., *H. Flavescens* Rgl.et Shmalh (Fabaceae-Leguminosae) or from *Mangifera indica* L (Anacardiaceae). The high performance and safety alpizarin is shown at clinical examination. Alpizarin apply at the adult and children to treatment of infections called by viruses of herpes, including acute and relapsing shapes of prime herpes of genital and extragenital localization, herpetiform eczema herpeticum, virus diseases of a oral mucosa, varicella zoster and herpes zoster.

КОЛХИР В.К., СОКОЛЬСКАЯ Т.А., ВИЧКАНОВА С.А., КРУТИКОВА Н.М.,
МИНЕЕВА М.Ф., КРЕПКОВА Л.В., ГЛАЗОВА Н.Г., БАГИНСКАЯ А.И., ШИПУЛИНА Л.Д.,
ФАТЕЕВА Т.Н., ТРУМПЕ Т.Е., ОМЕЛЬНИЦКИЙ П.П., БОРТНИКОВА В.В., ШКАРЕНКОВ
А.А., КИРЬЯНОВ А.А., ПИНЕЕВ С.А.

ВИЛАР, Москва, Россия

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНАЯ ДОБАВКА ВИЛАРИН – НОВАЯ ОРИГИНАЛЬНАЯ РАЗРАБОТКА ВИЛАРА

Разработка биологически активных добавок (БАД), повышающих резистентность организма к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды, остается актуальным в связи с увеличением числа заболеваний, связанных с ослаблением естественной устойчивости организма [1, 2, 3]. Учитывая, что нередко встречающееся заболевание мужчин - простатит, возникает чаще всего на фоне снижения неспецифической резистентности организма, для снижения риска развития данного заболевания целесообразно добавлять к пище БАД общеукрепляющей направленности.

Во ВНИИ лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) разработана новая биологически активная добавка (БАД) “Виларин” в виде таблеток по 0,1 г. Состав виларина разработан с расчетом получить БАД, общеукрепляющее действие которой было бы основано на многофакторном влиянии на процессы метаболизма, обеспечивающих повышение неспецифической резистентности организма.

Экспериментальные фармакологические, токсикологические и химические исследования виларина проведены в отделах медицины и стандартизации института.

Материалы и методы исследования.

Виларин - сухой суммарный экстракт из сбора лекарственного растительного сырья, в состав которого входят: корневища с корнями рапontiкума (левзеи) сафлоровидного (*Rhaponticum carthamoides*) - 10%; корневища и корни элеутерококка колючего (*Eleuterococcus senticosus*) - 15%; трава эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea*) - 25%; корни солодки (*Glycyrrhiza glabra*) - 10%; листья толокнянки (*Arctostaphylos Uva ursi*) - 10%; плоды шиповника (*Rosa*,) - 30%. Все сырьевые ингредиенты виларина внесены в Государственную Фармакопею, на их основе разрешены к медицинскому применению различные лекарственные средства. Основными действующими веществами БАД, учитывая его состав, являются гликозиды фенольного характера, тритерпеновые гликозиды, производные оксикоричной кислоты, дубильные вещества, аскорбиновая кислота, каротин, инулин, эфирное масло и др.

Для их идентификации использованы качественные реакции, метод хроматографии в тонких слоях сорбента, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии на обращенно-фазных колонках. Наличие сиригина определяли по сравнению времен его удерживания в исследуемом образце с раствором Государственного стандартного образца сиригина.

Наличие в БАД экистерона, действующего вещества левзеи, подтверждается временем удерживания, рассчитываемым относительно пика сиригина. Для идентификации компонентов растительного сырья, входящего в виларин, использовали ТСХ на пластинках “Сорб-фил” в системе спирт-хлороформ (7:3). Отнесение зон адсорбции на пластинке проводили с использованием спиртовых извлечений из сырья отдельных компонентов препарата. Для количественного определения суммы фенологликозидов использован метод УФ-спектроскопии. Расчет содержания фенологликозидов предложено проводить по удельному показателю поглощения арбутина, максимум поглощения которого находится при 278 нм.

При исследовании виларина на экспериментальных моделях нейротропной активности (кроме модели физической работоспособности и выносливости) БАД вводили в желудок животных однократно в дозах 10 и 100 мг/кг, контрольные животные получали воду по 0,2 мл

на 20 г массы тела. При исследовании физической работоспособности и выносливости виларин вводили в тех же дозах, но трехкратно. Общефармакологические свойства виларина изучали при внутрижелудочном введении в дозах 50 и 100 мг/кг.

Нейротропную активность виларина исследовали с использованием различных экспериментальных моделей. Влияние БАД на спонтанную двигательную активность (СДА) мышей-самцов массой 18-19 г. по стандартной методике, используя актометр фирмы Уго-Базиле с автоматической регистрацией. Регистрацию СДА в виде числа перемещений мышей за 5 мин проводили в камерах актометра через 30, 60 и 90 после введения виларина.

Влияние виларина на координацию движений изучали на белых беспородных мышях-самцах массой 18-19 г в стандартной установке "Вращающийся стержень" фирмы Уго-Базиле. В каждой группе - по 10 мышей. Регистрировали время нахождения животных на вращающемся стержне через 30, 60 и 90 минут после введения виларина или воды.

Влияние виларина на поведение белых беспородных крыс массой 180-200 г в тесте "Открытое поле" проводили с использованием "открытого поля" норкового типа, предназначенного для изучения основных параметров поведения и неврологического статуса в условиях кратковременного психоэмоционального стресса, обусловленного помещением животного на открытую площадку. Через 30 минут после введения виларина регистрировали общепринятые показатели поведения: стойки, вертикальную активность, горизонтальную активность (число пересеченных квадратов), частоту заглядываний в отверстия, груминг, напряжение хвоста, число болюсов; выраженность серотонинергических симптомов (специфические встряхивания головы), неврологических симптомов (мигание, подергивание, дрожь), стереотипии (грызение, жевание, принюхивание). Стандартное время наблюдения животного в "открытом поле" - 3 минуты.

Влияние виларина на физическую работоспособность и выносливость изучали в тесте принудительного плавания белых беспородных мышей-самцов массой 17-18 г с грузом 7% от массы тела при температуре воды 22 °С. Первое плавание (определение физической работоспособности) начинали через 30 мин. после введения виларина или воды. Животные плавали до первого погружения в воду. Через 1 час отдыха животных снова заставляли плавать с тем же грузом, в тех же условиях. Цель повторного плавания – определение выносливости мышей.

Влияние виларина на выживаемость животных при гипоксической гипоксии с гиперкапнией определяли в стандартном тесте на выдерживании белых беспородных мышей массой 18-20 г. гермообъеме (500 мл) до их гибели. Виларин за 30 мин. до помещения мышей в гермообъем.

Анальгетическое действие виларина изучали на белых беспородных крыс обоего пола массой 180-200 г. в тесте “давление на лапу” в стандартной установке фирмы Уго-Базиле. Болевой порог измеряли у животных в исходном состоянии и через 1 час после введения виларина.

Противовоспалительное действие виларина изучали на модели острого воспалительного отека у мышей, массой 20-21 г, вызванного введением под апоневроз задних лап 50 мкл 1 % раствора формалина или 50 мкл 0,1 % раствора гистамина, и на модели перитонита у крыс, массой 140-150 г, воспроизводимого по методу [4] путем внутрибрюшинного введения 0,2 % раствора азотнокислого серебра в дозе 1 мл/100 г массы животного. О противовоспалительном действии виларина судили по степени торможения отека по отношению к контролю при его внутрижелудочном введении: в первом случае за 1 час до введения флогистиков и через 1 час после; во втором случае - через 1 час после введения AgNO_3 .

Ангиопротекторное действие виларина изучали по методу [5] на мышцах массой 17-18 г. Виларин вводили за 1 час до внутрибрюшинного введения 250 мкл 1% раствора трипановой сини. Критерием сосудистой проницаемости служило время выхода сини в очаг воспаления, вызванного нанесением на депилированную поверхность кожи 50 мкл ксилола.

Гастропротекторные свойства виларина изучали на белых крысах обоего пола массой 140-200 г на моделях этаноловых язв желудка [6]. Перед проведением эксперимента животные не получали пищи в течение 36 часов (вода без ограничения). Виларин вводили крысам дважды за 2 и за 1 час до введения 80% этанола в дозе 1,0 мл/крысу. Для оценки защитного действия на слизистую оболочку желудка учитывали общее количество язв, процент крыс с язвами, среднюю частоту возникновения язвенных дефектов. По данным показателям вычисляли индекс Паулса - интегральный параметр противоязвенной активности [7].

Гепатозащитный эффект виларина оценивали на модели острого гепатита у животных, вызванного однократным подкожным введением четыреххлористого углерода (1:1 в подсолнечном масле) в дозе 0,3 мл/100 г массы животного. Предварительно, в течение 3 дней животные опытных групп внутрижелудочно получали виларин. В день проведения эксперимента через 1 час после введения виларина животным опытных групп, а также контрольным, вводили CCl_4 . Обезвреживающую функцию печени определяли у животных через сутки по тесту “гексеналовый сон”. Гексенал в дозе 65 мг/кг вводили внутрибрюшинно и регистрировали длительность сна.

Диуретическое действие виларина изучали на фоне водной нагрузки на белых беспородных крысах-самцах массой 200-250 г [8].

Исследование влияния виларина на артериальное давление проводили в экспериментах на белых беспородных крысах обоего пола массой 200-250 г с использованием полиграфа

RM-6000 фирмы "Nichon Kohden". Систолическое и диастолическое артериальное давление у крыс регистрировали в исходном состоянии и в течение 90 минут после введения виларина.

Бактериостатическую и фунгистатическую активность изучали в опытах *in vitro* с использованием метода двукратных серийных разведений виларина в жидких питательных средах (МБП или Сабуро). В качестве тест-микроорганизмов использовали грамположительные бактерии *Staphylococcus aureus* 209-P, грамотрицательные бактерии - *Escherichia coli* M-17, *Proteus vulgaris* H-3137 и *Pseudomonas aeruginosa* 44TBIV, а также дрожжеподобные грибы - *Candida albicans* 1755. Антибактериальный или антифунгальный эффект определяли по минимальной ингибирующей рост бактерий или грибов концентрации (МИК) виларина, при которой визуально не наблюдали роста микроорганизмов.

Токсичность виларина изучали при однократном внутрибрюшинном и внутрижелудочном способах введения на 100 белых беспородных мышах обоего пола с массой тела 18-20 г и 80 белых беспородных крысах (самки, самцы, масса тела 180-200 г) согласно "Методическим рекомендациям по изучению общетоксического действия фармакологических средств" (1997). Длительность наблюдения за мышами и крысами составляла 10-15 дней. Параметры токсичности виларина рассчитывали в соответствии с методами Дейхмана и Лебланка и пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксону (М.Л.Беленький, 1963).

Результаты и обсуждение.

Виларин в дозах 10 и 100 мг/кг вызывал дозозависимое повышение спонтанной двигательной активности мышей на протяжении периода наблюдения (90 минут), что свидетельствует о его стимулирующем действии (Рис. 1)

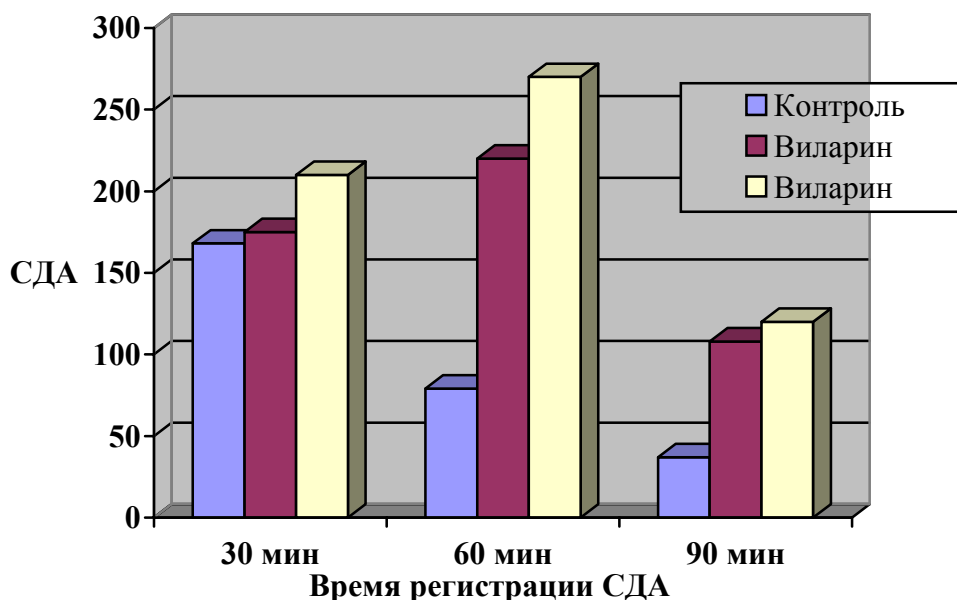


Рис.1. Влияние Виларина на спонтанную двигательную активность (СДА) у мышей

Аэёаёёі не оказывал негативного влияния на координацию движений животных (Рис.2). Напротив, мыши, получавшие БАД достоверно дольше удерживались на стержне. Возможно, этот результат обусловлен не только положительным влиянием виларина на координацию движений, но также его адаптогенным действием. Следует отметить, что, судя по пределам доверительного интервала, эффект виларина больше выражен у слабых животных: при увеличении средней продолжительности удерживания на стержне в 2-3 раза нижний предел доверительного интервала увеличивался в 4-7 раз, в то время как верхний – в 1,8-2 раза. Динамика эффекта одинакова для обеих доз.

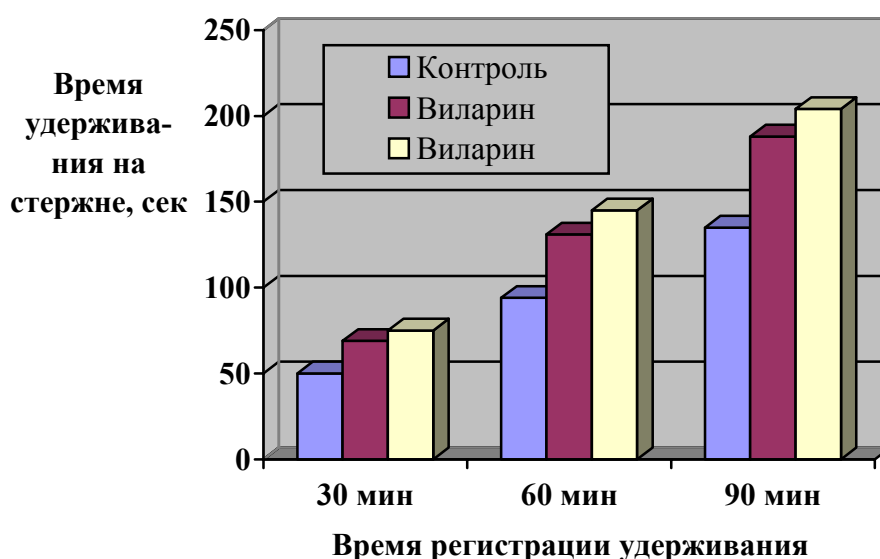


Рис.2. Влияние Виларина на координацию движений у мышей

При изучении влияния виларина на поведение животных в тесте “открытое поле” установлено, что через 30 мин. после введения виларина повышается ориентировочно-исследовательская активность мышей, что можно отнести к его стимулирующему действию. Уменьшение (в дозе 100 мг/кг – до 0) числа эпизодов специфического встряхивания головой, а также дрожи, свидетельствовало о стресс-протективном действии виларина. Усиление ориентировочно-исследовательской активности под влиянием виларина может быть проявлением состояния неспецифически повышенной реактивности, которое рассматривается как необходимый элемент общеукрепляющего, адаптогенного действия (Лазарев, 1960), направ-

ленного на компенсацию стресс-реакции.

Виларин в изученных дозах повышал физическую работоспособность и выносливость (табл.1). По сравнению с контролем физическая работоспособность опытных животных была повышена на 70% и 80% соответственно. Вероятно доза 100 мг/кг по этому показателю близка к оптимальной. Судя по величинам продолжительности повторного плавания, виларин повышает выносливость: мыши, получавшие БАД в дозе 10 мг/кг, после одночасового отдыха плавали почти столько же, сколько в первом сеансе (95% от продолжительности первого плавания). Мыши, получавшие виларин в дозе 100 мг/кг плавали (повторно) несколько меньше, чем первоначально: продолжительность второго плавания составила 80% от продолжительности первого плавания. Эти показатели превосходили соответствующий показатель для контрольных животных, у которых соотношение длительности I и II плавания составляла всего 60%.

Таблица 1

Влияние виларина при трехкратном введении на длительность плавания
мышей с грузом

Вариант опыта	Длительность I плавания, сек	Опыт/Контроль %%	Длительность II плавания, сек	Опыт/Контроль %%
Контроль (вода)	110,0 (139,7÷80,3)	100	66,2 (90,3÷42,1)	60
Виларин, 10 мг/кг	187,0 (234,0÷140,0)	170	178,0 (224,3÷131,7)	95
Виларин, 100 мг/кг	200,3 (250,7÷150,1)	180	160,2 (200,7÷119,7)	80

Таким образом, для виларина установлены актопротекторные свойства: он повышал физическую работоспособность и выносливость, ускорял процесс восстановления работоспособности после высокой нагрузки.

Виларин повышал устойчивость животных к гипоксии (в условиях гипоксической гипоксии с гиперкапнией) на 16% и 20%, соответственно, что свидетельствует о его умеренном антигипоксическом действии (Табл. 2).

Таблица 2

Влияние виларина на выживаемость животных при

гипоксической гипоксии с гиперкапнией

Вариант опыта	Длительность выживания в гермообъеме, сек, $M \pm m$	Опыт/Контроль %%
Контроль (вода)	746,0 \pm 181,0	100
Виларин, 10 мг/кг	865,0 \pm 130,0	116
Виларин, 100 мг/кг	894,2 \pm 88,8	120

При изучении анальгетической активности виларина показано, что он оказывал не-большой обезболивающий эффект в условиях модели “давление на лапу” у крыс (табл. 3.).

Таблица 3.

Влияние виларина на порог болевой чувствительности в тесте

“давления на лапу”

Вариант опыта	Болевой порог, сек		
	Исходное состояние	Через 1 час после введения	Анальгетический эффект в % к исходному
Контроль (вода)	8,7 (10,9 \div 6,3)	9,0 (11,5 \div 6,5)	+4
Виларин, 10 мг/кг	11,3 (14,2 \div 8,4)	12,4 (16,3 \div 8,5)	+10
Виларин, 100 мг/кг	10,1 (12,8 \div 7,4)	12,3 (15,7 \div 8,9)*	+22

*- $p < 0,05$ по сравнению с изменением порога в контроле

Таким образом по результатам изучения нейротропной активности виларина, можно заключить, что он обладает активирующими, положительными свойствами, а также оказывает протекторный эффект при внезапном кратковременном психоэмоциональном стрессе. С учетом выявленных антигипоксических и актопротекторных эффектов, в совокупности можно охарактеризовать виларин как БАД, обладающую адаптогенными свойствами.

Экспериментальные исследования также показали, что виларин обладает заметными противовоспалительными (противоотечными) свойствами, что характеризовалось уменьшением формалинового и гистаминового отеков у мышей на 26-35%% (в зависимости от дозы),

и воспалительного экссудата в брюшной полости у крыс с перитонитом на 20,8% (50 мг/кг) и 30,3% (100 мг/кг) по сравнению с контролем (Табл. 4-5).

Таблица 4.

Влияние виларина на течение воспалительного отека у мышей

Вариант опыта	Формалиновый отек, мг	Противовоспалительный эффект, %%	Гистаминовый отек, мг	Противовоспалительный эффект, %%
Контроль	62,8 \pm 5,53		49,1 \pm 3,2	
Виларин, 10 мг/кг	40,6 \pm 5,01	35,4*	36,1 \pm 2,01	26,5*
Виларин, 100 мг/кг	45,7 \pm 2,49	27,3*	32,1 \pm 2,48	34,6*

*- $p < 0.05$ по сравнению с контролем

Таблица 5.

Влияние виларина на процесс образования брюшного экссудата на фоне экспериментального перитонита у крыс

Вариант опыта	Объем экссудата в брюшной полости, мл	Противовоспалительный эффект, %%
Контроль	2,4 \pm 0,16	
Виларин, 10 мг/кг	1,9 \pm 0,11	20,8
Виларин, 100 мг/кг	1,6 \pm 0,17*	33,3

*- $p < 0.05$ по сравнению с контролем

Одним из механизмов развития воспалительного отека является увеличение проницаемости сосудов. В связи с этим представляло интерес изучить влияние виларина на проницаемость сосудистой стенки. Было показано, что виларин в дозах 50 и 100 мг/кг на 17,5 и

75,4%% ($p<0.05$) уменьшает проницаемость сосудов в очаге воспаления (табл. 6.), т.е. обладает капилляропротекторными свойствами.

Таблица 6.

Влияние виларина на проницаемость сосудов кожи у мышей

Вариант опыта	Время выхода трипановой сини	
	сек.	%% эффекта
Контроль	112,8±18,4	
Виларин, 10 мг/кг	132,6±16,9	+17,5
Виларин, 100 мг/кг	197,8±15,8*	+75,4

*- $p<0.05$ по сравнению с контролем

Ангиопротекторные свойства виларина, возможно, обуславливают и его гастропротекторное действие. Введение виларина животным до или на фоне действия ulcerогенного агента этанола оказывало умеренное дозозависимое защитное действие на слизистую желудка, что выражалось в снижении числа "больных" крыс (на 10-30%%), уменьшении частоты образования (на 24 и 45%%) и площади язвенных дефектов (на 14 и 41%%), а также индекса Паулса по сравнению с контролем.

На модели острого гепатита у крыс введение виларина оказывало небольшое положительное влияние на обезвреживающую функцию печени животных, что проявлялось в укорочении длительности гексеналового сна на 10-12%% по сравнению с контролем.

Виларин в условиях 5 часового диуреза с 5% водной нагрузкой увеличивал диурез у крыс в дозе 50 мг/кг на 48% ($p<0,05$), а в дозе 100 мг/кг – на 60% ($p<0,05$) относительно контрольной группы животных, что свидетельствует о его заметных диуретических свойствах.

В тоже время, результаты исследования виларина на артериальное давление у крыс не выявили у него существенного влияния на данный показатель гемодинамики.

Для более полного представления о диапазоне фармакологических свойств виларина были проведены исследования его антимикробной активности. В результате исследования установлено, что виларин обладает бактериостатической активностью в отношении грамположительных бактерий рода *STAPHYLOCOCCUS* в концентрации 10000 мкг/мл, грамотре-

цательных бактерий рода *ESCHERICHIA* в концентрации 8000 мкг/мл, бактерий рода *PROTEUS* и рода *PSEUDOMONAS* в концентрации 4000 мкг/мл. оказывает фунгистатический эффект в отношении дрожжеподобных грибов рода *CANDIDA* в концентрации 8000 мкг/мл.

Результаты токсикологического изучения виларина в широком диапазоне доз (5000-15000 мг/кг массы тела) показали, что при его однократном введении в желудок мышам и крысам у последних отмечалась кратковременная двигательная активность, сменявшаяся в последующие 2-4 часа незначительным угнетением центральной нервной системы и полностью исчезавшее к концу первых суток. Несмотря на большие дозы виларина (> 15000 мг/кг) гибели животных не было ни в одном случае. При внутрибрюшинном введении ЛД₅₀ виларина для мышей и крыс составила: 2100 (мыши-самцы), 1700 (мыши-самки), 2600 (крысы-самцы), 2000 (крысы-самки). Таким образом, по результатам изучения токсичности виларин следует отнести к V классу токсичности – практически нетоксичным веществам.

Заключение.

Известно, что каждый из растительных компонентов, включенных в виларин, обладает важными фармакотерапевтическими свойствами, необходимыми для проявления его адаптогенной активности. Так, для экстрактов эллеутерококка, шиповника, эхинацеи, левзеи ранее доказано наличие общеукрепляющих свойств, обусловленных разными механизмами действия. Экстракты солодки обладают также выраженной противовоспалительной и антимикробной активностью, а экстракт толокнянки, кроме того, и диуретическим эффектом.

При экспериментальных исследованиях виларина установлен его широкий оригинальный спектр фармакологического действия, важной особенностью которого является сочетание выраженного влияния на восстановительные процессы организма (быстрое и полное восстановление работоспособности животных после тяжелой нагрузки) и его способности оказывать противовоспалительный, капилляропротекторный и диуретический эффект. Все это позволили определить виларин как БАД общеукрепляющего действия, обладающей комплексом благоприятных, восстанавливающих разные системы организма, свойств.

Виларин рекомендуется применять у взрослых и детей старше 12 лет в качестве БАД к пище адаптогенного и общеукрепляющего действия с целью повышения неспецифической резистентности организма, особенно в ситуациях, требующих быстрого восстановления работоспособности, снижения риска развития заболеваний воспалительного характера, в том числе для профилактики воспаления предстательной железы и мочеполовой системы в целом.

Виларин применяют внутрь по 1 таблетке 3 раза в день до еды, прием таблеток заканчивают не позднее, чем за 2-3 часа до сна.

Эффективная доза БАД в виде таблеток по 0,1 г рассчитана, исходя из результатов экспериментального фармакологического изучения. При этом доза каждого из компонентов, указанных выше, соответствует 1/5-1/7 их терапевтической дозы при самостоятельном использовании каждого из компонентов в качестве лекарственного средств.

Основными противопоказаниями для приема БАД являются эпилепсия, судорожные состояния, острые инфекционные болезни, повышенная возбудимость и тяжелые формы артериальной гипертонии.

Виларин производится на ПЭЗ ВИЛАР.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Зиновьева Д.Н. (2000) Тезисы конференции “Биологически активные добавки к питанию и лекарственные препараты на натуральной основе в профилактике, лечении и реабилитации...”. Москва. С. 147-151.
2. Сейфулла Р.Д., Кондратьева И.И. и др. (2000) Тезисы конференции “Биологически активные добавки к питанию и лекарственные препараты на натуральной основе в профилактике, лечении и реабилитации...”. Москва. С. 160-163
3. Суханов Б.П., Королев А.А. (1998) Материалы 2-го международного съезда “Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения”. Санкт-Петербург-Валаам. С. 182-183.
4. Ойвин И.А., Монахова К.Н. (1953) Фармакол. и токсикол. Т.16. С.50-51.
5. Robert A., Nejamis J.E., Lancaster C. et al. (1983) Am.J.Physiol. Vol.245.-P.113-121.
6. Pauls F., Wick A.N. et al. (1947) Gastroenterol. V.8. P.774-782.
7. Берхин Е.Б. (1967) В кн.: Мочегонные средства, М.Медицина.

Kolckhir V.K., Sokolskaya T.A., Vichkanova S.A., Krutikova N.M., Mineeva M.F., Krepkova L.V., Glazova N.G., Baginskaya A.I., Shipulina L.D., Phateeva T.V., Trumpe T.E., Omelnitskiy P.P., Bortnicova V.V., Shkarencov A.A., Kirjanov A.A., Pinejev S.A.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

**A NEW ORIGINAL BIOLOGICALLY ACTIVE SUPPLEMENT TO FOOD
"VILARIN", A WORKING UP BY "АЕЕАД" ("VILAR").**

Vilarin is a dry, summerised, standartised extract of severel medicinal vegetable row material species. It posesses adaptogenic, general-strengthening properties and antiinflammational, capillaroprotective, diuretic activities. Vilarin was recommended for the use in adults.

**ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ И ДРУГИХ
БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГИПОРАМИНА - НОВОГО
ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА**

Проблема лечения заболеваний, вызываемых различными вирусами, относится на сегодняшний день к числу самых актуальных. Создание противовирусных средств является одной из наиболее сложных задач химиотерапии инфекций, в частности в связи с тем, что РНК- и ДНК-содержащие вирусы относятся к облигатным внутриклеточным паразитам. В процессе размножения вирусы в основном используют аппарат биосинтеза клеток макроорганизма, определенным образом модифицируя его, вследствие чего крайне трудно находить избирательно действующие средства, которые поражали бы вирусы, не повреждая клетки “хозяина”. Среди вирусных инфекционных болезней грипп занимает одно из первых мест по количеству людей, вовлеченных в эпидемический процесс. Длительное время наиболее эффективным средством борьбы с вирусными болезнями считается вакцинопрофилактика. Однако, с таким вирусным заболеванием, как грипп, эффективность этих мер ограничена необычной антигенной изменчивостью, приводящей к возникновению новых вариантов вируса, способных преодолеть иммунитет, выработанный к предыдущим штаммам. Поэтому химиопрофилактика и химиотерапия вирусных инфекций (грипп и ОРВИ, включая аденовирусные инфекции) являются достаточно актуальными направлениями. Основными химиотерапевтическими средствами лечения гриппа в настоящее время являются производные амантадина, в том числе ремантадин. Недостатком этих препаратов является наличие терапевтического эффекта только на ранних стадиях заболевания при гриппе А и отсутствие эффективности при гриппе В. Кроме того, их широкое применение приводит к возникновению ремантадин-устойчивых штаммов вируса гриппа А (3). Значение герпесвирусных заболеваний как проблемы общественного здравоохранения возрастает во всех странах мира. По данным ВОЗ представители семейства вирусов простого герпеса (ВПГ) человека поражают 60-95% населения, как в развитых, так и в развивающихся странах, а заболевания, обусловленные ВПГ, занимают второе место (15,8%) после гриппа (35,8%) как причина смертности от вирусных инфекций. Герпесвирусная инфекция варьирует от пузырьковых высыпаний на коже и слизистых оболочках до энцефалита и поражения жизненно-важных внутренних органов. Генитальный герпес в ряде стран уже относят к венерическим заболеваниям. Инфекция в неонатальном и перинатальном периодах приводит к высоким показателям смертности новорожденных (до 50-80%), а у выживших детей к серьезным последствиям. Герпесвирусные заболевания протекают как тяжелейшие осложнения у больных с пониженным им-

мунитетом, в том числе у посттрансплантационных и онкологических больных, при ВИЧ-инфекции и др. Основной трудностью в лечении герпесвирусных заболеваний является тот факт, что вирусы герпеса в отличие от ряда других вирусов характеризуются способностью к персистированию в организме и реактивации под воздействием различных неблагоприятных факторов с развитием рецидивов заболевания. Данное обстоятельство подчеркивает необходимость создания достаточно безвредных противовирусных препаратов, пригодных для лечения в течение длительного и повторного применения (4). Отсутствие эффективных препаратов этиотропного действия при ВИЧ-инфекции, тяжелейшего заболевания современности, является достаточным основанием для поиска лечебных средств и, в первую очередь, среди природных веществ.

Основная задача наших исследований заключалась в установлении на различных экспериментальных моделях вирусных инфекций специфического химиотерапевтического действия гипорамина. Гипорамин – оригинальный препарат, получаемый из облепихи крушиновидной, представляет собой сухой очищенный экстракт на основе полифенольного комплекса галлоэллаготаннинов. Биологически активными компонентами гипорамина являются гидролизуемые танины: (гипорамин, стриктинин, изостриктинин, казуаринин, гипофенин Д и вещество нетинниновой природы – квебрахит (11). Исследования проведены в отношении различных штаммов, в том числе эпидемических, вируса гриппа А и В, аденовирусов, герпеса и ВИЧ-инфекции. Кроме того изучен антимикробный спектр гипорамина в отношении патогенных бактерий и грибов (8,9,10).

Изучение вируснейтрализующей активности гипорамина и его компонентов проводили с использованием вирусов гриппа А человека - (А/Англия/333/80(H1N1), А/СССР/90/77(H1N1), А/Бангкок/1/79(H3N2), А/Филлипины/2/82(H3N2), А/Сингапур/57(H3N2), В/Сингапур/79/ и птиц – А/чайка/Астрахань/777/89(H13N6). Препараты исследовали в контактных опытах *in vitro* с индикацией на куриных эмбрионах. Вещество растворяли в буферном растворе с pH 7,2-7,4 в концентрациях 1, 10, 100, 500 и 1000 мкг/мл и смешивали с 1, 10, 100, и 1000 ЭИД₁₀₀ вируса гриппа (6).

Исследование показало, что гипорамин в концентрации 1000, 100 и 10 мкг/мл обладает высокой вируснейтрализующей активностью, полностью нейтрализуя 1000 ЭИД₁₀₀ вируса гриппа штамм А/Англия/333/80(H1N1). При концентрации 100, 500 и 1000 мкг/мл гипорамин практически полностью нейтрализовал репродукцию в куриных эмбрионах вирусов А/СССР/90/77(H1N1) на 6,75 lg, А/Филлипины/2/82(H3N2) на 5,75 lg и В/Сингапур/79 на 3,75 lg ЭИД₅₀. При исследовании влияния гипорамина на репродукцию вирусов гриппа птиц А/чайка/Астрахань/777/89(H13N6) и эпидемического штамма А/Сингапур/57(H2N2), с целью выявления штаммовой специфичности вируснейтрализующей активности, получе-

ны результаты, свидетельствующие об их идентичности с данными, выявленными при изучении эпидемических штаммов А/Н1N1 и А/Н3N2. Изучение минимальной вирусингибирующей концентрации (МИК) гипорамина в отношении различных штаммов показало, что для вирусов гриппа А и В эта концентрация была одинаковой и составила не более 10 мкг/эмбрион. Таким образом, экспериментальными исследованиями установлено, что гипорамин подавляет репродукцию как вируса гриппа А(Н1N1), (Н2N2), (Н3N2) и (Н13N6), так и вируса гриппа В. Сравнительное изучение противовирусной активности гипорамина и его основных компонентов (гипорамин, казауринин, гипофенин В, казауриктин, стриктинин, изостриктинин) в дозах 1000, 100 и 10 мкг/мл показало, что все они оказывали вируснейтрализующее действие на вирус гриппа, при этом гипорамин, представляющий собой трудноразделимую природную смесь этих компонентов, по активности не уступает ни одному из них.

Вирусингибирующее действие гипорамина в отношении вируса гриппа штамм А/Англия/333/82(Н1N1) изучали на модели куриных эмбрионов. Опыты проводили в двух вариантах: введение гипорамина за 1 час до инфицирования и введение гипорамина через 1 час после инфицирования. В первой серии опытов опытным 9-11 дневным куриным эмбрионам вводили в аллантоисную полость заранее оттитрованные хорошо переносимые дозы гипорамина (4 мг, 2 мг, 1 мг и 0,5 мг/эмбрион) в объеме 0,2 мл раствора фосфатного буфера с рН 7,2-7,4. В каждую группу брали по 5 эмбрионов. Опытные и контрольные (интактные) эмбрионы выдерживали при комнатной температуре в течение 1 часа, после чего все эмбрионы заражали 10, 100 и 1000 инфицирующими дозами вируса гриппа штамм А/Англия/333/82(Н1N1). После 48 часов инкубирования при температуре 37⁰С эмбрионы охлаждали в течение двух часов в холодильнике при температуре +4⁰С и отсасывали аллантоисную жидкость, в которой определяли количество вируса гриппа по реакции гемагглютинации (РГА). РГА ставили с 0,5 % взвесью отмытых куриных эритроцитов. Заключение о действии гипорамина делали на основании сравнения средних геометрических титров в опытных и контрольных группах. Во второй серии опытов вирусингибирующий эффект гипорамина сравнивали с отечественным противовирусным препаратом оксолином.

В результате исследования установлено, что гипорамин в опытах *in ovo* оказывает высокий вирусингибирующий эффект: в дозе 4 мг/эмбрион полностью ингибировал 10, 100 и 1000₁₀₀ вируса гриппа А/Англия/333/82(Н1N1); в дозе 2 мг/эмбрион – 10 ЭИД₁₀₀ вируса и частично снижал количество вируса в дозах 1 и 0,5 мг/эмбрион в отношении 10 ЭИД₁₀₀. При сравнительном исследовании гипорамина с оксолином установлено, что гипорамин в дозе 0,5 мг/эмбрион при введении в аллантоисную полость куриных эмбрионов, предварительно инфицированных вирусом гриппа, ингибировал развитие 10 ЭИД₁₀₀ вируса

гриппа, в то время как вирусингибирующий эффект оксолина в той же дозе проявлялся только в отношении 1 ЭИД₁₀₀ вируса.

Эффективность гипорамина на модели экспериментальной гриппозной инфекции, вызванной штаммом вируса гриппа A/PR/8/34(H0N1) и штаммом вируса гриппа B/Сингапур/222/79, изучали при аэрозольном введении препарата. Исследование проводили на белых беспородных мышах массой 7-8 г. (в каждой группе по 20 животных). Наблюдение за животными проводили в течение 10-14 суток. Для инфицирования животных использовали патогенный вариант R₉₄(P_m) рекомбинантного штамма вируса гриппа (R₉₄), полученный в результате рекомбинации лабораторного штамма A/PR/8/34(HON1) с эпидемическим штаммом A/Филлиппины/2/82(H3N2), а также вирус гриппа B/Сингапур/222/79. Животных заражали интраназально 10% суспензией легких мышей, инфицированных вирусом гриппа R₉₄ в соотношении 0,05 г/мл в соотношении 1:512. Эксперимент проводили в соответствии с протоколом производства ГДР*. Разовая доза, получаемая каждой мышью, соответствовала 40 мг на 1 кг массы животного, или в пересчете на фактическую массу животного 0,6 мг/мышь (600 мкг/мышь). Гипорамин растворяли в трижды дистиллированной воде; контрольные животные получали в виде плацебо аэрозоль трижды дистиллированной воды. Эффективность гипорамина на модели гриппозной инфекции белых мышей изучали при двух схемах введения – лечебно-профилактической и лечебной. С лечебно-профилактической целью препарат вводили мышам за 1-5 часов до инфицирования вирусом, затем ежедневно, один раз в сутки, в течение 8 суток.

С лечебной целью гипорамин начинали вводить животным через 24 и 48 часов после инфицирования (когда вирус гриппа уже интенсивно репродуцировался в легких), а затем продолжали ежедневное введение 1 раз в сутки в течение последующих 8 суток. Аэрозольное введение гипорамина проводили в течение 80 мин., из которых 60 мин. – время подачи аэрозоля в камеру и 20 мин. – экспозиция в аэрозольном облаке. Наблюдение за гибелью мышей проводимое в течение 21 дня с момента заражения показало, что гибель животных в контрольной группе начиналась на 6 день после инфицирования, в то время

*). Аппарат позволял получать аэрозоли со следующим объемным фракционно-дисперсионным составом частиц с размером от 0 до 1 мкм – 2%, от 1 до 2 мкм - 10%, от 2 до 5 мкм – 80%, от 5 до 7 мкм - 8%. Количество и размер частиц определяли фотографированием аэрозольного облака в динамике и получением соответствующих фотоснимков.

**) Объем камеры был выбран из такого расчета, чтобы по условиям предельных концентраций кислорода и углекислого газа можно было экспонировать 40 животных в аэрозольном облаке в течение 20 мин. после прекращения подачи аэрозоля. Аппарат был снабжен системой подачи воздуха от аспиратора с замером его объемной скорости. Объемная скорость принудительной подачи аэрозоля составляла 4 л/мин., что обеспечивало 5-10-кратный запас по отношению к суммарному дыхательному объему 40 мышей массой 15 г при удельном дыхательном объеме легких $V=1,2$ мл/г/мин.

как в опытных группах – на 9 день. При этом в случае введения гипорамина за 5 часов до инфицирования наблюдалось, кроме того, увеличение выживаемости мышей на 31% при полной их гибели в контроле. Подобный эффект (гибель животных в более поздние сроки по сравнению с контрольной группой) отмечен и для другой опытной группы, в которой для инфицирования использовали более высокую дозу патогенного вируса – 100 ЛД₅₀. При этом в группе, где гипорамин вводили за 5 часов до инфицирования, гибель животных начиналась на 3 суток позже, чем в контроле, а в группе, где препарат применяли за 1 час до заражения – на 1 сутки позже, чем в контроле. Таким образом, полученный нами в данном опыте результат свидетельствует о том, что в большинстве опытных групп мышей, получавших гипорамин, гибель животных наблюдалась в более поздние сроки, чем в контрольных группах, а в одной группе отмечено увеличение выживаемости животных в сравнении с контрольной. Для проверки лечебно-профилактической схемы введения препарата поставлен эксперимент с использованием одной дозы патогенного вируса (1 ЛД₅₀). В этом опыте гипорамин вводили одной опытной группе дважды – за 4 часа до инфицирования и на вторые сутки после инфицирования. Вторая опытная группа мышей получала препарат трижды: за 4 часа до инфицирования, на вторые и на четвертые сутки после инфицирования. Через три недели наблюдений за выживаемостью мышей получены следующие результаты: выживаемость мышей в контрольной группе составляла 25%; в группе мышей, получавшей препарат дважды – 33%; в опытной группе, в которой гипорамин вводили трижды – 70%. Таким образом, в данном эксперименте при заражении животных 1 ЛД₅₀ выявлена тенденция к увеличению выживаемости животных при лечебно-профилактической схеме применения гипорамина. В случае инфицирования животных вирусом гриппа В/Сингапур/222/79 лечение животных проводили также по двум схемам. Одной группе мышей вводили препарат за 3 часа до инфицирования, а затем на вторые сутки после инфицирования. Второй группе гипорамин вводили трехкратно: за 3 часа до инфици-

рования, затем на вторые и четвертые сутки после инфицирования. Меньшая гибель мышей (68%) наблюдалась при трехкратном введении препарата (вторая группа). В первой группе гибель составляла 94,5%. В обеих группах срок гибели мышей сдвигался на сутки по сравнению с контролем. Увеличение дозы препарата вдвое (до 1500 мкг/мышь) приводило к увеличению продолжительности срока жизни в опытных группах. При морфологическом изучении органов мышей, установлено следующее: у интактных мышей, взятых в эксперимент, отмечены некоторые циркуляторные расстройства в легких, печени и селезенке. Это выражалось в единичных очаговых кровоизлияниях в легких, в усилении рисунка ткани. У мышей, инфицированных рекомбинантным штаммом вируса гриппа A(R₉₄) и не подвергавшихся лечению (контрольная группа), отмечалась разлитая бронхопневмония с очаговыми кровоизлияниями. После двукратного введения гипорамина циркуляторные изменения были локализованы только в легких. При инфицировании мышей вирусом гриппа В/Сингапур/222/79 у контрольных животных отмечалось более сильное поражение легких, а также печени и селезенки. После введения гипорамина циркуляторные изменения и очаги пневмонии отмечены только в легких.

При исследовании антиаденовирусной активности гипорамина в работе использовали аденовирус человека типа 2 и перевиваемую линию клеток Нер-2 (2). Переносимость гипорамина в разных дозах для клеток в предварительных опытах изучали цитоморфологическим методом. При этом токсического влияния гипорамина в концентрации 250 мкг/мл в отношении культуры клеток Нер-2 выявлено не было. Для определения вирусингибирующего эффекта использовали цитоморфологический метод, основанный на выявлении клеток, содержащих вирусные внутриядерные включения (Weber J., 1972). Через 48 часов после инфицирования клетки фиксировали; флюорохромировали 0,01% раствором акридинового оранжевого и исследовали в люминисцентном микроскопе на наличие вирусных внутриядерных включений. В каждом из трех препаратов, обработанных одной концентрацией гипорамина, просчитывали 500 клеток и определяли среднее количество инфицированных (%). Процент ингибирования гипорамином определяли по отношению к контролю. Для выявления вирулицидного действия гипорамина, то-есть его непосредственного деструктивного влияния на клеточный вирус, гипорамин в концентрации 10 мкг/мл добавляли к вирусосодержащей жидкости, затем через 1, 2, 3 и 4 часа отбирали аликвоты, готовили 10-кратные разведения и заражали клетки с целью определения инфекционного титра. Клетки выращивали в пробирках, содержащих полоски покровных стекол на среде Игла с 10% прогретой сыворотки крупного рогатого скота, и через 48 часов инфицировали аденовирусом. Адсорбцию вируса проводили при комнатной температуре в течение 1 часа, после чего клетки отмывали от неадсорбировавшегося вируса раствором Хенкса, заливали средой Игла без

сыворотки и инкубировали при температуре 37°C в течение 48 часов. Гипорамин изучали в концентрациях 50, 25, 10, 5, 2,5 и 1 мкг/мл при нескольких способах обработки им клеток и вируса: контакт вируса с гипорамином в течение 1 часа при температуре 37°C, заражения им клеток, адсорбция 1 час при комнатной температуре, отмывка, от неадсорбированного вируса, наличие препарата в соответствующей концентрации в поддерживающей среде после заражения (1 вариант); смесь вируса с гипорамином сразу использовали для заражения клеток (2 вариант); добавление гипорамина в поддерживающую среду после заражения (3 вариант); добавление гипорамина к клеткам за 1 час до заражения (4 вариант).

Установлено, что при проведении адсорбции вируса в присутствии гипорамина (варианты 1 и 2) выявлен его значительный вирусингибирующий эффект. При первом варианте обработки ингибирующий эффект гипорамина проявлялся при высокой заражающей дозе вируса (91% инфицированных клеток в контроле): в концентрации 50 и 25 мкг/мл гипорамин полностью блокировал репродукцию аденовируса (ингибирование 100%), в концентрации 10 мкг/мл (в 25 раз меньше максимально переносимой) гипорамин уменьшал количество инфицированных клеток по отношению к контролю на 95%. В случае использования меньшей заражающей дозы вируса (53% инфицированных клеток в контроле) гипорамин полностью блокировал репродукцию аденовируса в концентрации даже 10 мкг/мл, а в концентрациях 5 и 1 мкг/мл уменьшал количество инфицированных клеток, соответственно, на 87% и 47%. При проведении адсорбции в присутствии гипорамина и использовании высокой множественности инфицирования (в контроле 95% инфицированных клеток) также выявлен значительный ингибирующий эффект препарата. В данном случае в концентрации 5 мкг/мл гипорамин подавлял количество инфицированных клеток на 90%, в более высоких концентрациях - до 98% (вариант 2). Добавление гипорамина в среду после адсорбции вируса (вариант 3) не оказывало ингибирующего влияния на его репродукцию, количество инфицированных клеток не отличалось от контроля. При предобработке клеток гипорамином до заражения вирусом (вариант 4) незначительное подавление репродукции выявлено только в концентрации 50 мкг/мл. В более низких концентрациях (25 и 10 мкг/мл) препарат не влиял на репродукцию аденовируса. Исходя из полученных данных, можно предположить, что гипорамин блокирует репродукцию аденовируса на первых этапах взаимодействия его с клеткой, происходящих в течение первого часа контакта с клеткой, или обладает вирулицидным действием. Таким образом, использование вирусспецифического теста для оценки антиаденовирусной активности гипорамина позволило установить в культуре клеток выраженный ингибирующий эффект препарата. Вероятнее всего, гипорамин блокирует репродукцию аденовируса на первых этапах взаимодействия его с клеткой. Эффект наблюдается при наличии гипорамина в среде во время адсорбции вируса. Гипорамин обладает

ингибирующим эффектом в концентрации в 50-10 раз меньше максимально переносимой (ХТИ=50).

Изучение вирусингибирующего действия гипорамина в отношении вируса герпеса 1 типа штамм “Л₂” проводили в первично-трипсинизированной культуре клеток фибробластов куриного эмбриона (ФЭК). Культуру клеток ФЭК готовили по общепринятой методике. В качестве питательной среды использовали среду 199. В предварительных опытах было установлено, что гипорамин в концентрациях 30 мкг/мл и ниже не вызывал видимых цитодеструктивных изменений в незараженных клетках фибробластов эмбрионов кур при контакте в течение 7 суток. Для опытов использовали вирус простого герпеса, штамм “Л₂” первой антигенной группы (ВППГ-1). Штамм выделен в 1955 г. А.К.Шубладзе и Т.М.Маевской (СССР) из содержимого герпетического пузырька больной с рецидивирующим герпесом. Для растворения препарата 5 мг гипорамина помещали в стерильную ступку, заливали для стерилизации 95° этиловым спиртом (0,1 мл), выдерживали 1 час (к концу этого срока спирт практически испарялся), затем добавляли 5 мл питательной среды 199, получая исходную концентрацию 1000 мкг в 1 мл. Вирусосодержащую жидкость в объеме 1 мл с содержанием вируса 1, 10, 100 и 1000 ТЦД₁₀₀/мл наносили на монослой культуры клеток куриных фибробластов для контакта вируса с клеткой. Через 1 час удаляли остатки вируса и во флаконы вносили среду без сыворотки (контроль размножения вируса). В опытные флаконы вносили среду без сыворотки с растворенными в ней разными концентрациями гипорамина (30, 20, 10, 5, 2, 1 и 0,5 мкг/мл). Учет опыта производили по наступлению цитопатогенного действия как в опытных, так и в контрольных флаконах после инкубирования в термостате при температуре 37°С в течение 3-5 дней. В качестве препарата сравнения использовали известные отечественные противовирусные препараты - оксолин и зарубежный препарат зовиракс (фирма “Wellcome, Англия)(1,7,5).

В результате проведенных исследований установлено, что гипорамин в концентрациях 5, 2, 1 и 0,5 мкг/мл полностью ингибировал репродукцию 100, 10 и 1 ТЦД₁₀₀ вируса герпеса штамм “Л₂”. ХТИ=60. При сравнительном изучении вирусингибирующего эффекта в отношении ВППГ-1 гипорамина, оксолина и зовиракса установлено, что в минимальных концентрациях 1 и 0,5 мкг/мл гипорамин полностью подавлял 1, 10 и 100 ТЦД₁₀₀ данного штамма вируса. Зовиракс в этих же концентрациях ингибировал репродукцию лишь 1 и 10 ТЦД₁₀₀ вируса герпеса, оксолин в дозах 10 и 50 мкг/мл - лишь 50% ВППГ-1. Таким образом, противогерпетическая активность гипорамина превышает активность как отечественного противовирусного препарата оксолина, так и зарубежного препарата зовиракс.

Исследование эффективности гипорамина в культуре клеток Н9/ШВ, пермиссивно зараженных вирусом СПИД проводили в опытах *in vitro*. Культуру клеток Н9/ШВ, пермис-

сивно зараженных вирусом СПИД (HTLV-III) разливали в лунки планшетов фирмы "Coster". Одновременно в лунки вносили гипорамин для получения конечной концентрации 30 мкг/мл. Повторное внесение гипорамина осуществляли при последующем пересеве клеток через 3 суток. Планшеты инкубировали при температуре 37°C при 5% CO₂ в течение 14 суток. Жизнеспособность клеточных культур контролировали ежедневно с помощью инвертированного микроскопа. Результаты опыта учитывали на 3, 7, 10 и 14 сутки методом непрямой иммунофлуоресценции с использованием сыворотки больного ВИЧ-инфекцией в разведении 1:40.

В данных условиях опыта, при внесении гипорамина в концентрации 30 мкг/мл в культуру клеток Н9/ШВ не удалось выявить противовирусного эффекта, приводящего к исчезновению вируса из клеток Н9/ШВ, перmissивно зараженных вирусом СПИД(HTLV-III). Дальнейшее исследование эффективности гипорамина проводили и в опытах *in vitro* в смешанной культуре клеток Н9/ШВ и Н9. Смесь (1:1) клеток готовили непосредственно перед опытом и разливали по 2 мл в каждую лунку в 24 луночных планшетах фирмы "Coster". Одновременно в лунки вносили гипорамин из расчета получить в лунках конечные концентрации 30, 10, 5 и 1 мкг/мл. Планшеты инкубировали при температуре 37°C при 5% CO₂ в течение 7 суток. Жизнеспособность клеточных культур контролировали ежедневно с помощью инвертированного микроскопа. Результаты опыта учитывали на 7 сутки методом непрямой иммунофлуоресценции с использованием сыворотки больного СПИД в разведении 1:30. В результате исследования установлено, что гипорамин в концентрации 30 мкг/мл ингибирует вирусную продукцию в изученной системе клеток Н9/ШВ и Н9 на 50% (ЕД₅₀). В более низких концентрациях (10 и 5 мкг/мл) ингибирующий эффект гипорамина выявлялся примерно в 40%. Заслуживает внимания проявление ингибирующего эффекта гипорамина в отношении смешанной культуры клеток Н9/ШВ и Н9 при его использовании даже в малой концентрации 1 мкг/мл. Таким образом, изучение гипорамина в опытах *in vitro* на двух моделях ВИЧ-инфекции в условиях клеточных культур показало, что ингибирующий эффект гипорамина проявлялся в смешанной системе клеток Н9/ШВ и Н9. Заслуживает внимания высокий химиотерапевтический индекс препарата, так как хорошо переносимая концентрация гипорамина, не снижающая темпов роста культуры клеток Н9 в течение всего периода наблюдения, составляла 30 мкг/мл, а ингибирующий эффект гипорамина в отношении смешанной культуры клеток Н9/ШВ и Н9 проявлялся при его использовании даже в концентрации 1 мкг/мл. Анализируя результаты экспериментального изучения гипорамина можно предположить, что гипорамин проявит эффективность при его назначении в качестве лечебно-профилактического средства как при ранних стадиях развития ВИЧ-инфекции, так и в очагах возможного инфицирования.

Как известно (Alexander, 1978; Zipkind et al., 1989) парамиксовирусы (ПМВ) вызывают массовые эпизоотии среди сельскохозяйственных и диких птиц ежегодно во всех регионах мира. Убытки в результате массовой гибели птиц огромны. Вакцина против ПМВ серотипа 1 (штамм ВБН – вирус болезни Ньюкасла) очень часто не приносит нужного эффекта. На фоне высокого уровня гуморальных антител возникает эпизоотия. Поэтому выявление химиотерапевтических средств, обладающих противовирусным действием на ПМВ, представляет задачу первостепенной значимости. Проведено испытание действия гипорамина на ПМВ птиц серотипа 1 и 2.

Исследования действия гипорамина на репродукцию парамиксовирусов (ПМВ) птиц серотипа 1 и 2 проводили в системе куриного эмбриона методом контакта 0,2 мл вируса с 0,2 мл препарата. Для работы были выбраны два штамма ПМВ птиц, имеющие наибольшую эпизоотологическую значимость: ПМВ –1 – вирус болезни Ньюкасла (“Бор”) и ПМВ-2 курица /Алма-Ата/71/84, индюк /Юкейпа/56. Вирус культивировали в 10-дневных куриных эмбрионах и на культуре клеток МДСК, Vero, ФЭК. Установлено, что гипорамин в концентрациях 10, 100 и 500 мкг/мл не оказывает токсического действия и полностью нейтрализует репродукцию вируса в куриных эмбрионах. При изучении действия гипорамина на репродукцию ПМВ птиц 1 и 2 серотипов в культуре клеток использовали культуру клеток “Vero”. Клетки “Vero” культивировали в 24-луночных панелях в течение 48-72 часов и инфицировали ПМВ птиц 1 и 2 серотипов в дозе $5 \cdot 10^7 - 6 \cdot 10^7$ ИД₅₀. Гипорамин вносили в дозах 50, 10,5 и 2,5 мкг/мл (МПД для клеток - 1000 мкг/мл). После адсорбции (1 час при 37°C) инокулят удаляли, клетки отмывали средой 199 и добавляли ростовую среду с 10 мкг/мл трипсина (Worthington, USA). Эффективность действия гипорамина оценивали по снижению гемагглютинирующих титров вирусов. Через 48-72 часа инфекционный титр вируса в контроле составил $5,75 \pm 0,25 \lg$ ИД₅₀ и $6,25 \pm 0,5 \lg$ ИД₅₀ соответственно для ПМВ 1 и 2. В присутствии гипорамина в концентрациях 5 и 10 мкг/мл инфекционный титр вирусов снижался на 4,5 - 4,75 \lg ИД₅₀. При концентрации 2,5 мкг/мл - на 3,75 \lg ИД₅₀. Таким образом изучение влияния гипорамина на репродукцию ПМВ птиц 1 и 2 как в культуре клеток “Vero”, так и в курином эмбрионе показало, что препарат гипорамин оказывает вирусингибирующее и вируснейтрализующее действие на данных моделях на ПМВ птиц 1 и 2 серотипа. При изучении химиотерапевтической эффективности гипорамина на модели парамиксовирусной инфекции кур для эксперимента использовали пятидневных цыплят по 10 особей для каждой группы. Препарат вводили per os и внутрибрюшинно в дозах 50 мкг/особь 300 мкг/особь по 0,2 мл пятикратно: за 24 часа и за 1 час до инфицирования, а затем через 24, 48 и 72 часа после инфицирования. Инфицировали цыплят по 0,2 мл ПМВ серотипа 1 - курица/Алма-Ата/352/86 интраназально. При введении гипорамина per os

наблюдалось некоторое защитное действие препарата, выражающееся в задержке падежа цыплят (на 1-2 суток). Учитывая, что гипорамин оказывает сходное действие на орто и парамиксовирусы, можно предположить его действие на первые стадии репродукции вирусов (адсорбции и проникновения).

При определении антимикробного спектра гипорамина использовали 7 тест-микроорганизмов (*Staphylococcus aureus* 209-P, *Escherichia coli* 844, *Proteus vulgaris* H-3137, *Pseudomonas aeruginosa* 44T BIV, *Mycobacterium tuberculosis*, *Microsporum canis*, *Candida albicans* 1755). Навеску препарата не менее 10 мг вносили в стерильную пробирку и стерилизовали в течение 1 часа 95% этиловым спиртом из расчета 0,1 мл спирта на 5 мг препарата. Затем добавляли соответствующую каждому микроорганизму стерильную питательную среду в количестве, необходимом для создания исходной концентрации препарата 1000 мкг/мл. Из данной пробирки путем двукратных серийных разведений готовили ряд убывающих концентраций. Последняя пробирка с чистой средой (без добавления препарата) служила контролем. После этого все пробирки (опытные и контрольные) засеивали культурами микроорганизмов. Взвеси грамположительных и грамотрицательных бактерий готовили в изотоническом растворе по бактериальному стандарту мутности и в каждую пробирку вносили по 0,2 мл взвеси, содержащей 4 тыс. микробных тел в 1 мл (для стрептококка – 500 тыс. микробных тел в 1 мл) и инкубировали в термостате при температуре 37-38°C в течение 24 часов. Взвеси микобактерий туберкулеза готовили в изотоническом растворе по стандарту БЦЖ и вносили по 0,2 мл взвеси, содержащей 0,5 мг бацилл в 1 мл и инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 7-10 суток. Ингибирующий эффект определяли по минимальной концентрации гипорамина (в мкг/мл), при которой визуально не наблюдали роста микроорганизмов. Опыты проводили в трех повторностях. Установлено, что гипорамин ингибирует рост ряда изученных грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов в концентрации 31,2-250 мкг/мл.

При исследовании интерферониндуцирующей активности гипорамина в предварительных опытах изучали цитотоксическое действие гипорамина с использованием 72-х часовых культур клеток М-19. Гипорамин вносили в дозах 100, 250, 500 и 1000 мкг/мл. Контакт клеток с препаратом осуществляли в течение 24 часов, после чего регистрировали наличие повреждающего цитотоксического действия в монослое клеток М-19. С целью исследования интерферониндуцирующей активности гипорамина использовали пробы цельной крови человека (100 мкл) в 800 мкл среды культивирования. Гипорамин вносили в дозах 10, 25, 50 и 100 мкг /мл культуры клеток крови (в 100 мкл). Спустя сутки после культивирования отсасывали надосадочную жидкость с последующим титрованием в диплоидных клетках человека штамм М-19 с использованием плоскодонных 96-луночных плат. Время

контакта надосадочной жидкости с клетками составило 24 часа при 37°C. По истечении этого срока к культурам добавляли индикаторный вирус энцефаломиокардита (ЕМС). Инфекционная доза составила 100 ТЦИД₅₀/0,1 мл. Титр интерферона определяли через 24 часа после инфицирования вирусом (ЕМС). Активность выражали в международных единицах (МЕ). Параллельно с изучением интерферониндуцирующей активности гипорамина проводилась индукция стандартными индукторами вирусом болезни Ньюкасла (ВБН) и стафилококковым эндотоксином типа А (СЭА), продуцирующими L-интерферон и -интерферон одновременно. Установлено, что гипорамин обладает низкой цитотоксичностью: в дозах 100, 200, 500 и 1000 мкг/мл он не оказывал повреждающего действия на монослой М-19. Минимальные дозы гипорамина (10, 20 и 50 мкг/мл) способствовали синтезу более высоких титров интерферона (максимальные титры интерферона в надосадочной жидкости составили 65-80 МЕ/мл). Повышение концентрации до 100 мкг/мл приводило к снижению продукции интерферона (30 МЕ/мл). При сравнительном изучении гипорамина по интерферониндуцирующей активности со стандартными индукторами интерферона ВБН и СЭА установлено, что гипорамин способствовал более высокой продукции интерферона по сравнению с использованием такого индуктора как СЭА (32 МЕ/мл), но уступал ВБН (256 МЕ/мл и выше). Таким образом, препарат гипорамин, обладая низкой цитотоксичностью, является активным индуктором интерферона в культуре клеток периферической крови человека.

Таким образом проведенные экспериментальные исследования показали, что гипорамин новый отечественный препарат растительного происхождения обладает уникальными биологическими свойствами, сочетая противовирусную активность в отношении широкого спектра патогенных РНК- и ДНК-содержащих вирусов (гриппа А и Б, герпеса, аденовирусы, ВИЧ и др.), ряда болезнетворных микроорганизмов и обладая при этом интерферониндуцирующими свойствами. Учитывая, что гипорамин, как показали исследования, хорошо переносится различными видами клеток (ФЭК, МДСК, Vero, Нер-2) в дозах во много раз превосходящих терапевтические для каждой модели. Гипорамин обладает высоким ХТИ. Полученные данные послужили основой для дальнейшей разработки нового эффективного лечебного средства в различных лекарственных формах и клинических исследований при вирусных инфекциях.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования.
Москва "Медицина", 1982.
2. Дрейзин Р.С., В.М.Жданов. Аденовирусные инфекции. Москва, 1962.

3. Калныня В.А., Фельдблюм Р.Л., Индулен М.К., Устойчивость вирусов к химиопрепаратам. Рига, 1984.
4. Коломиец А.Г., Ю.К.Малевич, Коломиец Н.Д. Многоликий герпес. Минск, 1988.
5. Майчук Ю.Ф. Вирусные заболевания глаз. Москва "Медицина", 1981.
6. Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии. Москва, "Медицина", 1971.
7. Соколов М.И., Синицкий А.А., Ремезов П.И. Вирусологические и серологические исследования при вирусных инфекциях. Москва, "Медицина" 1972.
8. Шипулина Л.Д. Гипорамин – новый противовирусный препарат. //Тез. докл. VI Российского национального конгресса «Человек и лекарство».-19-23 апреля 1999 г.- Москва.- С.489.
9. Шипулина Л.Д., Вичканова С.А., Фатеева Т.В., Крутикова Н.М. Экспериментально-клиническое изучение противовирусного препарата гипорамин. // Мат-лы Второго научного конгресса «Традиционная медицина: теоретические и практические аспекты».- Чебоксары, 1996.- Часть 1.-С. 107.
10. Шипулина Л.Д., Вичканова С.А., Фатеева Т.В., Крутикова Н.М., Шейченко О.П., Толкачев О.Н. Гипорамин – новое лекарственное средство. // Тез. докл. III Российского национального конгресса «Человек и лекарство».-16-20 апреля 1996 г.- Москва.- С.58.
11. Шипулина Л.Д., Вичканова С.А., Шейченко О.П., Толкачев О.Н. Лекарственное средство для лечения вирусных заболеваний. // Патент на изобретение №2118163 с приоритетом 27 апреля 1994 г. Заявка № 94016333. Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений 27 августа 1998 г.

.SHIPULINA L.D.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia
ANTIVIRAL DIFFERENT BIOLOGICAL PROPERTIES OF HIPORAMIN.

Hiporamin is a purified tannin fraction from Hippophae rhamnoides, possessing a wide spectrum of antiviral activity against Influenza viruses A, Influenza viruses B, Herpes simplex type 1,

adenoviruses type 2, HIV-1 and a mild antimicrobial activity in respect of Gram+ and Gram- microorganisms. Hiporamin also has been shown to exhibit interferon induction activity.

ВИЧКАНОВА С.А., КРУТИКОВА Н.М.

ВИЛАР, Москва, Россия

ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГИПОРАМИНА ПРИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Исследования противовирусных свойств облепихи крушиновидной были начаты в институте в 80-е годы (8).

Проведенные НИР привели к созданию «Гипорамина» – оригинального отечественного препарата, представляющего собой сухой очищенный экстракт, содержащий полифенольный комплекс галлоэллаготанинов, биологически активными компонентами которого являются гидролизуемые танины, имеющие общие структурные элементы в виде глюкозгаллольного и гексагидроксифенольного остатков (7-10). Гипорамин обладает широким спектром противовирусного действия (вирусы гриппа А и В, аденовирусы, парамиксовирусы, *Herpes simplex*, *Varicella zoster*, цитомегаловирусы, респираторно-синцитиальный вирус, ВИЧ и др.). Гипорамин повышает содержание интерферона в крови больных. Гипорамин оказывает также ингибирующий эффект в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, туберкулезных микобактерий, кандиды и др. (1, 4, 11-18).

Клинические исследования гипорамина проводили на 625 стационарных больных взрослого и детского возраста (от 2 месяцев) с различными вирусными заболеваниями в 9 клиниках: НИИ вирусологии РАМН им. Д.И. Ивановского (Директор академик РАМН, профессор Д.К.Львов, ответственные за клинические испытания - д.м.н. С.Г.Чешик, д.м.н. Л.В.Колобухина, к.м.н. Р.В.Вартанян), НИИ трансплантологии и искусственных органов МЗ РФ (Зам. дир. А.Ш.Хубутия, ответственный за клинические испытания - д.м.н. Н.И.Габриэлян, с.н.с. А.В.Чубарова), НИИ иммунологии МЗ РФ (Глав. врач, рук. научно-методического центра по борьбе со СПИД – В.Д.Прокопенко, ответственные за клинические испытания - научн. сотр.- М.Н.Папуашвили), ЦНИКВИ МЗ РФ (Директор академик РАМН, профессор Ю.К.Скрипкин, ответственный за клинические испытания – профессор В.Н.Гребенюк), на Кафедрах кожных и венерических заболеваний ММА им. И.М.Сеченова (Зав. каф. – профессор О.Л.Иванов, ответственный за клинические испытания – к.м.н. М.А.Самгин) и РГМУ (Зав. каф. – акад. РАМН Ю.К.Скрипкин, ответственный за клинические испытания – д.м.н. И.В.Хамаганова), на Кафедрах детских инфекций РГМУ (Зав. каф. – чл.-корр. РАМН, профессор В.Ф.Учайкин, ответственный за клинические испытания – к.м.н. М.С.Савенкова) и РМАПО (Зав. каф. и ответственный за клинические испытания – д.м.н., профессор В.П.Тимина), в Отделе по изучению репаративных процессов ММА им. И.М.Сеченова (Зав. каф. и ответственный за клинические испытания – профессор И.А.Шахмейстер) (2,3,5,6).

При клиническом исследовании использовали 6 лекарственных форм гипорамина: сублингвальные таблетки 0,02 г (для санации полости рта), лиофилизированный гипорамин

(стерильный) по 0,02 г (для приготовления водных 0,1-0,2% растворов, используемых в виде ингаляций и капель в нос), 0,5% мазь (для нанесения на очаги поражения на коже и слизистых оболочках), суппозитории ректальные и вагинальные с гипорамином 0,05 г (для взрослых) и суппозитории, содержащие гипорамин 0,03 г (для детей), используемые в качестве лекарственной формы гипорамин общего резорбтивного действия.

У взрослых гипорамин прошел 2 фазы клинических испытаний переносимости и эффективности. Первая фаза клинических исследований гипорамин была осуществлена в НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского РАМН и в Отделе по изучению репаративных процессов в коже ММА им. И.М.Сеченова на 48 взрослых пациентах и показала хорошую переносимость и достаточную эффективность препарата во всех пяти лекарственных формах, что было подтверждено объективными клинико-лабораторными показателями.

Вторая фаза расширенных клинических испытаний гипорамин у 326 взрослых пациентов подтвердила данные I фазы о хорошей переносимости гипорамин и показала широкий диапазон его противовирусной активности. Так, в институте вирусологии была установлена высокая эффективность гипорамин при наблюдении 149 больных, среди которых 84 больных было с неосложненным гриппом и 65 пациентов с другими ОРВЗ, осложненными бактериальной инфекцией – ангиной. Гипорамин при раннем его применении при гриппе и других ОРВЗ (1-2 день болезни) достоверно сокращал продолжительность лихорадки и симптомов токсикоза. Особенностью гипорамин является его эффективность при ангинах, в том числе протекающих на фоне ОРВЗ: препарат способствует более ранней нормализации температуры, исчезновению симптомов интоксикации и воспалительных изменений в миндалинах. Кроме того, по данным Института вирусологии, гипорамин способствовал коррекции клеточного иммунитета и повышал содержание сывороточного интерферона.

В НИИТ и ИО клинические испытания проводили на 112 больных кардиохирургического и нефрологического профиля. Из них 75 пациентам, в том числе 24 больным, относящихся к группам риска, гипорамин применяли с целью профилактики послеоперационных осложнений. С лечебной целью гипорамин назначали 25 пациентам, среди которых было 20 больных с простым герпесом и 5 больных – с опоясывающим лишаем. Было установлено, что гипорамин не только дает стойкий лечебный противовирусный эффект при осложнениях герпесвирусной этиологии и ОРВЗ, но и оказывает профилактическое действие для предупреждения послеоперационных вирусных осложнений у больных, особенно в условиях постоянно осуществляемой иммунодепрессивной терапии – ни у одного больного из 75 не было осложнений вирусной этиологии (в контроле – 25% случаев).

В трех лечебных учреждениях: в НИИ иммунологии, в Отделе репаративных процессов в коже ММА им. И.М.Сеченова и на Кафедре кожных и венерических болезней ММА

им. И. М. Сеченова клинические исследования были проведены на 65 больных с вирусными поражениями кожи и слизистых оболочек, в том числе герпес простой острый и рецидивирующий экстрагенитальной и генитальной локализации, опоясывающий лишай, цитомегаловирусная инфекция. Применение гипорамина способствовало более быстрому засыханию везикул и образованию корочек, уменьшению воспалительной реакции, снижению субъективных ощущений, болезненности, зуда. Клиницисты считают, что гипорамин близок по действию к хелепину и алпизарину, несколько уступает ацикловиру, и заметно превосходит бонафтон.

Учреждения, проводившие клиническое изучение у взрослых, отмечали хорошую переносимость гипорамина, отсутствие каких-либо побочных явлений при применении всех пяти изученных лекарственных форм и рекомендовали гипорамин для применения в медицинской практике в качестве противовирусного средства.

На основании положительного опыта изучения гипорамина у взрослых, показавшего его хорошую переносимость и эффективность, Фармакологическим Государственным Комитетом МЗ РФ в 1996 году были разрешены клинические испытания гипорамина у детей в качестве противовирусного средства.

Гипорамин в педиатрии изучали в 4 лекарственных формах: суппозитории для детей по 0,03 г, таблетки сублингвальные по 0,02 г, мазь 0,5%, лиофилизированный порошок по 0,02 г для приготовления 0,1% водного раствора. В клинических исследованиях принимало участие 5 лечебных учреждений.

В соответствии с программой клинических испытаний в задачи исследования входило определение переносимости гипорамина в представленных лекарственных формах у больных детского возраста; определение терапевтической эффективности гипорамина при инфекционных заболеваниях у детей различной этиологии, вызванных как отдельными вирусами, так и вирусно-бактериальными ассоциациями; определение оптимальных суточных и курсовых доз и схемы применения гипорамина в представленных для изучения лекарственных формах у пациентов детского возраста; разработка рекомендаций по гипорамину при лечении каждой нозологии для включения в инструкцию по его применению в медицинской педиатрической практике.

Гипорамин изучали в качестве лечебно-профилактического противовирусного средства при различных острых и хронических заболеваниях вирусной этиологии, таких как острые респираторные вирусные инфекции, в том числе с обструктивным синдромом, заболевания, вызываемые *Herpes simplex* (острые и рецидивирующие формы простого герпеса) или

Varicella zoster (ветряная оспа, опоясывающий лишай), а также другие вирусные дерматозы (папилломавирусные контагиозный моллюск, плоские и обычные бородавки).

Эффективность и переносимость гипорамина изучены у 251 больного в возрасте от 2 месяцев до 14 лет, при этом больные с ОРВИ составили 120 больных, с ветряной оспой - 37 больных, с вирусом герпеса (герпесвирусные дерматозы, опоясывающий лишай и др.) - 69 больных, папилломавирусными и другими вирусными дерматозами - 25 больных.

Всеми клиническими учреждениями отмечена хорошая переносимость гипорамина в предложенных лекарственных формах у больных детского возраста: ни в одном случае не выявлены местнораздражающие и общетоксические проявления, в том числе аллергизирующего характера. Наряду с отсутствием токсических проявлений все клиники отмечают высокую, статистически достоверную, эффективность гипорамина, в том числе примененного в виде монотерапии (табл.1 и 2).

Так, в Института вирусологии им. Д.И.Ивановского РАМН проведены клинические исследования на 42 больных детского возраста с острыми респираторными вирусными инфекциями (грипп, парагрипп, аденовирусные и РС-вирусные заболевания, а также микст-инфекции), в том числе протекающими с обструктивным синдромом и пневмонией. При этом установлено, что лечение гипорамином в виде суппозиторий по 0,03 г для детей в сочетании с приемом сублингвальных таблеток гипорамина по 0,02 г, ингаляциями и каплями в нос 0,1% водного раствора способствует достоверному сокращению длительности основных клинических проявлений, таких как кашель, ринит, лихорадка, стеноз гортани, хрипы в легких. Отмечено также более быстрое (более чем в 3 раза) исчезновение вирусного антигена в клетках цилиндрического эпителия слизистой оболочки носа и сокращение сроков выздоровления детей по сравнению с больными, получавшими традиционное лечение (симптоматическая и десенсибилизирующая терапия и, при необходимости, антибиотики). Применение гипорамина у детей с ОРВИ позволило снизить

Таблица 1

ДИНАМИКА ВЫЗДОРОВЛЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ОРВИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ГИПОРАМИНОМ

НОЗОЛОГИЯ	ЛЕЧЕНИЕ	Скорость исчезновения клинических признаков, сутки ($M \pm m$)*	Показатели выздоровления, ($M \pm m$)*
ОРВИ, протекающие с обструктивным	Монотерапия гипорамином** (ингаляции +	4,25 \pm 0,25 (ринит) 4,53 \pm 0,25 (кашель) 1,86 \pm 0,22 (лихорадка)	5,3 \pm 0,36 (длительность госпитализации,

синдромом (синдром Круга) 120 больных, в том числе: • Институт вирусологии им. Д.И.Ивановского	капли в нос + суппозитории и/или таблетки) Традиционная терапия*** (симптоматическая и десенсибилизирующая терапия, антибиотика)	$2,39 \pm 0,15$ (стеноз гортани) $3,1 \pm 0,25$ (хрипы в легких) $2,4 \pm 0,21$ (длительность сохранения вирусного антигена) $6,5 \pm 0,88$ (ринит) $7,6 \pm 0,7$ (кашель) $2,75 \pm 0,49$ (лихорадка) $6,6 \pm 0,93$ (стеноз гортани) $5,5 \pm 0,33$ (хрипы в легких) $7,3 \pm 4,3$ (длительность сохранения вирусного антигена)	сутки) $10,0 \pm 1,22$ (длительность госпитализации, сутки)
Кафедра детских инфекционных болезней РГМУ	Монотерапия гипорамином**** (ингаляции + капли в нос + суппозитории и/или таблетки) Традиционная терапия***** (симптоматическая и десенсибилизирующая терапия, антибиотика)	$1,33 \pm 0,24$ (гипертермия) $1,36 \pm 0,21$ (кашель) $1,46 \pm 0,018$ (осиплость голоса) $2,0 \pm 0,2$ (гипертермия) $5,0 \pm 3,6$ (кашель) $2,15 \pm 0,12$ (осиплость голоса)	$7,2 \pm 0,4$ (длительность госпитализации, сутки) $8,5 \pm 0,6$ (длительность госпитализации, сутки)

*) показатели статистически достоверны

**) необходимость применения антибиотиков в 37% случаев

***) необходимость применения антибиотиков в 80% случаев

****) необходимость применения антибиотиков в 50% случаев

*****) необходимость применения антибиотиков в 70% случаев

частоту возникновения осложнений и, в связи с этим, необходимость применения антибиотиков. Значительно сократились сроки пребывания детей в стационаре, что особенно важно для детей младшего возраста ($5,8 \pm 0,36$ суток - в испытуемой группе и $10,0 \pm 1,22$ суток - в контрольной группе). Результаты исследования достоверны.

Таблица 2

ДИНАМИКА ВЫЗДОРОВЛЕНИЯ БОЛЬНЫХ ВЕТРЯНОЙ ОСПОЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ГИПОРАМИНОМ

НОЗОЛОГИЯ	ЛЕЧЕНИЕ	Скорость исчезновения клинических признаков, су-	Показатели выздоровления,
-----------	---------	--	---------------------------

		тки (M + m)*	(M ± m)*
ВЕТРЯНАЯ ОСПА 37 больных (из 41) • Кафедра дет- ских инфекций РМАПО МЗ РФ	Монотерапия гипорамином (суппозитории + мазь и/или таблетки)	$2,4 \pm 1,0$ (прекращение высыпаний на 1-3 день у $85 \pm 6,9 \%$ больных)	$3,9 \pm 1,2$ (образование корочек на 3-5 день у $89 \pm 6,0\%$ больных)
	Традиционная тера- пия (симптоматиче- ская и десенсибили- зирующая терапия + раствор бриллианто- вой зелени или пер- манганата калия)	$3,3 \pm 1,4$ (прекращение высыпаний на 1-3 день у $40 \pm 15\%$ больных)	$4,9 \pm 1,5$ (обра- зование корочек на 3-5 день у $50 \pm 16\%$ боль- ных)

*) показатели статистически достоверны

На Кафедре детских инфекционных болезней РГМУ получены аналогичные результа-
ты при лечении 78 детей, страдающих ОРВИ с синдромом крупа (стеноз I-II степени, об-
структивный бронхит). Применение гипорамин приводило к достоверному сокращению
продолжительности основных клинических симптомов (температурная реакция, одышка, яв-
ления стеноза, осиплости голоса) и сроков пребывания пациентов детского возраста в ста-
ционаре. У больных, получавших гипорамин по схеме, включающей одновременное приме-
нение гипорамин в виде ингаляций, таблеток для санации полости рта, капель в нос и суп-
позиторийев. Назначение антибиотиков потребовалось лишь в 50% случаев, в то время как в
контрольной группе - в 70% случаев.

Большой интерес представляют исследования, проведенные Кафедрой детских ин-
фекций РМАПО, где гипорамином лечили 37 детей, больных ветряной оспой. Сопоставление
данных о клинической эффективности гипорамин в виде суппозиторийев, мази и таблеток, и
средств традиционной терапии (симптоматические, десенсибилизирующие средства и мест-
ная обработка раствором бриллиантовой зелени) свидетельствует о том, что при применении
гипорамин наблюдается более быстрое прекращение высыпаний и обратное развитие вези-
кулезных элементов (образование корочек и их отпадение), особенно в случаях назначения
препарата в ранние сроки болезни (1-3 сутки).

Заслуживают внимания данные, полученные на Кафедре кожных болезней лечебного
факультета РГМУ при лечении 46 детей с герпесвирусными дерматозами, где гипорамин
применяли в виде суппозиторийев, мази и сублингвальных таблеток (табл.3). Так, у всех па-
циентов, получавших гипорамин, отмечено более быстрое, статистически достоверное, ис-

чезновение клинических симптомов: регресс высыпаний, отсутствие свежих проявлений, улучшение общего состояния и самочувствия, по сравнению с контрольной группой, получавшей традиционные препараты (таблетки и мазь бонафтона). При этом данные серологического исследования также показали достоверное снижение противовирусных титров антител в исследуемой группе, в то время как в контрольной группе титр антител продолжал оставаться высоким. Средние сроки выздоровления детей при монотерапии гипорамином ($7,0 \pm 0,5$ сут.) достоверно короче, чем в контрольной группе ($10,0 \pm 0,5$ сут.).

Не менее интересные данные получены у 44 детей с вирусными заболеваниями кожи и слизистых оболочек в Отделении детской дерматологии ЦНИКВИ МЗ РФ при изучении гипорамин в виде суппозиторий для детей, мази 0,5% и сублингвальных таблеток. При вирусных дерматозах, таких как бородавки, остроконечные кондиломы и контагиозный моллюск, использование гипорамин не показало выраженной эффективности и не выявило отличия от традиционной терапии. Однако применение гипорамин в сочетании с радикальным удалением вирусных папулезных элементов предупреждало в дальнейшем появление рецидивов заболевания (профилактический эффект), что представляет интерес для дальнейших исследований. Недостаточное количество больных по каждой нозологической форме папилломавирусных и других вирусных дерматозов и отсутствие статистически достоверных результатов не позволили включить эти данные в число показаний для применения гипорамин. У пациентов, страдающих рецидивирующим герпесом лица, монотерапия гипорамином приводила к достоверному снижению сроков разрешения высыпаний герпеса ($8,50 \pm 0,92$ сут.) в сравнении с контрольной группой, где использовали традиционную терапию - ацикловир и др. ($9,75 \pm 2,63$ сут.). При этом отмечено уменьшение частоты рецидивов заболевания.

Таблица 3.

**ДИНАМИКА ВЫЗДОРОВЛЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ВИРУСНЫМИ ДЕРМАТОЗАМИ
ПРИ ЛЕЧЕНИИ ГИПОРАМИНОМ**

НОЗОЛОГИЯ	ЛЕЧЕНИЕ	Скорость исчезновения клинических признаков, сутки ($M \pm m$)*	Показатели выздоровления, ($M \pm m$)*
ВИРУСНЫЕ ДЕРМАТОЗЫ 94 больных ,	Монотерапия гипорамином	$(16,0 \pm 0,5)$ часов	$7,0 \pm 0,5$ (полный регресс кож-

в том числе ■ обусловленные вирусом простого герпеса (69 больных)	(Суппозитории + мазь и/или таблетки)	разрешение эритемы	ных проявлений, отри- цательный результат вирусологического об- следования, сутки)
Кафедра кожных и венерических бо- лезней РГМУ	Традиционная тера- пия (Таблетки бонафтона по ,025; мазь бонаф- тона 0,5%)	(24,0 ± 0,5) ча- сов разрешение эритемы	$10,0 \pm 0,5$ (полный регресс кож- ных проявлений, отри- цательный результат вирусологического об- следования, сутки)
ЦНИКВИ	Монотерапия гипорамином (суппозитории + мазь и/или таблетки)	-	$8,50 \pm 0,92$ (дни разрешения высы- паний)
	Традиционная тера- пия (ацикловир и др.)	-	$9,75 \pm 2,63$ (дни разрешения высы- паний)

*) показатели статистически достоверны

Суммируя полученные результаты клинических исследований гипорамина у 251 пациента детского возраста в формах: суппозитории для детей по 0,03 г, таблетки сублингвальные по 0,02 г, мазь 0,5% и 0,1% водный раствор, необходимо отметить, что все клиники пришли к общему заключению о высокой эффективности и хорошей переносимости гипорамина у детей.

Гипорамин разрешен для применения у взрослых и детей (в возрасте от 2 месяцев и старше) в качестве лечебно-профилактического средства при гриппе (А и В), парагриппе, респираторно-синцитиальной, аденовирусной и других острых респираторных вирусных инфекциях; ангинах, протекающих на фоне острых респираторных вирусных заболеваний и сопровождающихся ринитами; при острых и рецидивирующих формах простого герпеса экстрагенитальной и генитальной локализации, цитомегаловирусной инфекции, опоясывающем лишае, ветряной оспе и других инфекциях, вызванных чувствительными к препарату вирусами.

Таким образом, исследование гипорамина, нового отечественного противовирусного препарата, в клинических условиях выявило ряд особенностей, отличающих его от других препаратов противовирусного действия. Разнообразие его клинической эффективности мож-

но объяснить, с одной стороны, широким спектром противовирусной активности в отношении ряда РНК- и ДНК-вирусов. С другой стороны, наличием у препарата не только противовирусных, но и антимикробных свойств в отношении ряда патогенных микроорганизмов. Кроме того, для гипорамина установлено наличие интерферониндуцирующего действия. Такое необычное сочетание разного вида свойств, в том числе химиотерапевтической активности, влияния на разные виды возбудителей инфекционных заболеваний и благоприятного воздействия на макроорганизм с отсутствием каких-либо побочных (токсических) влияний на организм больного обеспечивает широкий диапазон его терапевтической эффективности в клинике и возможность применения как у взрослых больных, включая беременных женщин, так и у детей, включая пациентов с 2-х месячного возраста. Разнообразие клинических показаний при которых доказана эффективность гипорамина, подчеркивает его особое место среди других противовирусных средств.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Глызин В.И., Вичканова С.А., Колхир В.К., Сокольская Т.А. Основные разработки лекарственных растительных препаратов. их клиническая эффективность и место в современной медицине. // Тез. докл. II Российского национального конгресса «Человек и лекарство».-10-15 апреля 1995 г.- Москва.- С.233.
2. Вичканова С.А. Исследование клинической эффективности гипорамина при вирусных инфекциях у взрослых. // Тез. докл. VI Российского национального конгресса «Человек и лекарство».- 19-23 апреля 1999 г.- Москва.- С. 281.
3. Вичканова С.А., Крутикова Н.М., Вартамян Р.В., Савенкова М.С., Тимина В.П., Хамаганова И.В. Эффективность гипорамина при вирусных инфекциях у детей. // Тез. докл. VII Российского национального конгресса «Человек и лекарство».- 10-14 апреля 2000 г.- Москва.- С. 208.
4. Вичканова С.А., Шипулина Л.Д., Толкачев О.Н., Фадеева И.И., Шейченко О.П., Белошапко А.А., Хлапцев Е.Е., Баринский И.Ф., Нестерчук С.Л., Фадеева Н.И., Герасина С.Ф. Биологически активное вещество против вируса СПИД. // Патент на изобретение №1805967 с приоритетом 3 ноября 1987 г. Заявка №4335127. Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений 9 октября 1992 г.
5. Меркулова Л.Н., Колобухина Л.В., Белокуров А.В., Иванова Л.А., Михайлова Л.М., Лучшев В.И., Крылов В.Ф. Терапевтическая эффективность гипорамина при гриппе. // Мат-лы Второго научного конгресса «Традиционная медицина: теоретические и практические аспекты».- Чебоксары, 1996.- Часть 1.-С. 88.

1. Меркулова Л.Н., Колобухина Л.В., Белокуров А.В., Крылов В.Ф., Лопатина).А. Лучшев В.И., Михайлова Л.М., Грищенко С.В., Иванова Л.А., Носик Н.И. Киржнер Л.С., Лаврова В.А., Лорисов А.В., Лаврухина Л.А. Терапевтическая эффективность гипорамина при лечении больных гриппом. // Эпидемиология и инфекционные болезни.- 1996 г.- №1.- С.42-43.
2. Охотникова В.Ф., Качалина Т.В., Шейченко О.П. Разработка сублингвальных таблеток гипорамина. // Мат-лы Второго научного конгресса «Традиционная медицина: теоретические и практические аспекты».- Чебоксары, 1996.- Часть 1.-С. 92.
3. Толкачев О.Н., Шейченко О.П., Фадеева И.И., Шейченко В.И., Семенова Т.С., Шипулина Л.Д., Вичканова С.А. Способ получения противовирусного препарата «Гипорамин». // Патент на изобретение №2098111 с приоритетом 30 марта 1994 г. Заявка №94011336. Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений 10 декабря 1997 г.
4. Фадеева И.И., Вичканова С.А., Шейченко О.П., Петерс В.В., Толкачев О.Н., Ермаков Б.С., Изосимова С.Б., Фатеева Т.В., Курченко Л.И., Щавлинский А.Н., Северцев В.А., Кошелев Ю.А. Способ получения суммы фенольных соединений, обладающих противовирусной активностью. // Авторское свидетельство №1188947 с приоритетом изобретения 13 января 1983 г. Заявка №3537399. Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений 1 июля 1985 г.
5. Шейченко В.И., Шейченко О.П., Шипулина Л.Д., Загорий В.А., Толкачев О.Н. Препарат гипорамин из облепихи крушиновидной: химические и аналитические аспекты. // Мат-лы Второго научного конгресса «Традиционная медицина: теоретические и практические аспекты».- Чебоксары, 1996.- Часть 1.-С. 106.
6. Шипулина Л.Д. Гипорамин – новый противовирусный препарат. //Тез. докл. VI Российского национального конгресса «Человек и лекарство».-19-23 апреля 1999 г.- Москва.- С.489.
7. Шипулина Л.Д., Вичканова С.А., Фатеева Т.В., Крутикова Н.М. Экспериментально-клиническое изучение противовирусного препарата гипорамина. // Мат-лы Второго научного конгресса «Традиционная медицина: теоретические и практические аспекты».- Чебоксары, 1996.- Часть 1.-С. 107.
8. Шипулина Л.Д., Вичканова С.А., Фатеева Т.В., Крутикова Н.М., Шейченко О.П., Толкачев О.Н. Гипорамин – новое лекарственное средство. // Тез. докл. III Российского национального конгресса «Человек и лекарство».-16-20 апреля 1996 г.- Москва.- С.58.
9. Шипулина Л.Д., Вичканова С.А., Шейченко О.П., Толкачев О.Н. Лекарственное средство для лечения вирусных заболеваний. // Патент на изобретение №2118163 с приоритетом 27

апреля 1994 г. Заявка № 94016333. Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений 27 августа 1998 г.

10. Шипулина Л.Д., Ленева И.А., Федякина И.Т. Изучение влияния гипорамина на активность вирусной нейраминидазы. // Тез. докл. VI Российского национального конгресса «Человек и лекарство».-19-23 апреля 1999 г.- Москва.- С.76.
11. Шипулина Л.Д., Носач Л.Н., Бутенко С.И., Жовноватая В.Л., Дяченко Н.С. Изучение гипорамина на репродукцию аденовируса в культуре клеток. // Тез. докл. V Российского национального конгресса «Человек и лекарство».- 21-25 апреля 1998 г.- Москва.- С. 639.
12. Шипулина Л.Д., Толкачев О.Н., Шейченко О.П., Фатеева Т.В., Крутикова Н.М. Корреляционный анализ противовирусных агентов: гидролизуемых таннинов облепихи крушиновидной. // Тез. докл. IV Российского национального конгресса «Человек и лекарство».-8-12 апреля 1997 г.- Москва.- С. 239.
13. Шипулина Л.Д., Фадеева Н.И., Ленева И.А. Федякина И.Т. Изучение противовирусной активности гипорамина в отношении респираторно-синцитиального вируса. // Тез. докл. V Российского национального конгресса «Человек и лекарство».- 21-25 апреля 1998 г.- Москва.- С. 639.

VICHKANOVA S.A., KRUTIKOVA N.M.

SINGULARITIES OF CLINICAL EFFECTIVENESS OF HIPORAMIN AT VIRUS INFECTIONS

Hiporamin - unique domestic drug obtained from Hiporamin is allowed for application at the adult and children (in the age of from 2 months and is more higher) as treatment-and-prophylactic tools at an influenza (A and Â), parainfluenza, respiratory syncytial , adenoviral and other acute respiratory virus infections; anginas flowing past on a hum noise of acute respiratory virus diseases and accompanying with rhinites; at the acute and relapsing shapes of prime herpes of extragenital and genital localization, visceral disease virus infection, herpes zoster, varicella zoster and other infections caused responsive to a drug by viruses. A variety of the clinical observations at which the effectiveness hiporamin is proved, underlines his special place among other antiviral tools.

ШИПУЛИНА Л.Д., ЛЕНЕВА И.А., ФЕДЯКИНА И.Т.

ВИЛАР, Москва, Россия

К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ ГИПОРАМИНА

Знание особенностей механизма действия противовирусного препарата позволяет решить такие проблемы как преодоление возникающей к нему резистентности, разработка оптимального молекулярного дизайна или композиции, а также оптимизация его применения

препарата в клинике (1,2,3). В изучении механизма вируссpezifического действия лекарственного средства существенным является определение мишени его воздействия в звене вирусной репродукции. Действие наибольшей части известных в настоящее время противовирусных препаратов, таких как ацикловир, аномальные аналоги нуклеозидов, интерферон связано с вируссpezifическими синтезами (4,5). Поэтому особый интерес при изучении нового противовирусного средства представляют данные о воздействии его на синтез вируссpezifических белков. Однако, его действие может быть связано и с другими стадиями вирусной репродукции. В частности, широко применяемые в настоящее время противогриппозные препараты амантадин и ремантадин воздействуют как(?) на различные стадии вирусной репродукции, ингибируя функцию трансмембранного вирусного белка М2, участвующего в формировании ионных каналов, обеспечивающих контроль градиента рН, необходимый для освобождения нуклеопротеида на ранних стадиях вирусной репродукции и самосборки вирусной частицы на поздних стадиях (6). Другим вирусным белком, играющим важную роль на различных этапах репродукции вирусов является поверхностный вирусный гликопротеин нейраминидаза. Это фермент, входящий в состав вирионов гриппа, гидролизует гликозидную связь, соединяющую кетогруппу N-ацетилнейраминовой кислоты с D-галактозой, D-галактозамином или другими сахарами. Функция нейраминидазы в репродукции вируса может заключаться в облегчении отделения созревших вирусных частиц от мембран клетки хозяина, а также в удалении сиаловой кислоты при раскрытии молекулы гемагглютинина для кливеджа (7,8,9).

Современные представления в молекулярной биологии вирусов позволяют использовать новые подходы для направленного избирательного вмешательства в цикл репродукции вирусов. Одним из таких подходов является создание противовирусных препаратов, способных избирательно подавлять каталитическую активность вирусных ферментов, в частности активность нейраминидазы вируса гриппа. С этой способностью связано действие применяемых в настоящее время противовирусных препаратов теброфена и флоренала. Сообщается также и о других ингибиторах нейраминидазы, подавляющих репродукцию вируса гриппа А и В и находящихся на стадиях доклинического и клинического изучения (18,19).

Гипорамин – сухой экстракт на основе полифенольного комплекса, преобладающими компонентами которого являются галлоэллаготаннины, полученные из листьев облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L).

В настоящее время точные данные о механизме его действия отсутствуют. В частности, нет данных о влиянии гипорамина на синтез вируссpezifических белков. Имеющиеся предварительные данные свидетельствуют о нарушении нейраминидазной активности ви-

рионов в присутствии гипорамина, а также о вероятном воздействии его на ранние стадии вирусной репродукции.

Целью нашей работы явилось изучение некоторых молекулярно-биологических особенностей действия противовирусного препарата гипорамина. В соответствии с целью нами были поставлены задачи изучить влияние гипорамина и его компонентов на репродукцию вируса гриппа А в клетках MDCK и его нейраминидазную активность для выявления взаимосвязи их противовирусной активности с воздействием на нейраминидазу. Кроме того, мы также решили изучить действие гипорамина, добавленного в различное время вирусной репродукции, на синтез вирусспецифических белков в клетках MDCK.

Материалы и методы

В опытах использовали вирус гриппа А, штамм А/Япония/305/57(H2N2), А/Пуэрто-Рико/8/34. Вирусы выращивали в аллантоисной полости 9-дневных куриных эмбрионов. Клетки MDCK выращивали на среде 199 с добавлением 10% фетальной сыворотки телят и 10 мМ глутамин.

Объекты изучения – гипорамин и его представленные в виде природных смесей или индивидуальных веществ: активные – смесь: изостриктинин+стриктинин+казуаринин; казуаринин+казуариктин; неактивные компоненты: стриктинин, изостриктинин, квербрахит.

В качестве препаратов сравнения использовали ремантадин и бонафтон.

При определении цитотоксического действия препаратов клетки MDCK выращивали в 96-луночных планшетах фирмы «Costar» в 199 среде в присутствии 5% сыворотки телят и 10 мМ глутамин до полного монослоя. Затем вносили в планшеты ряд разведений испытуемых препаратов. После инкубации в течение 72 часов при 37°C визуально оценивали состояние клеточного монослоя. Затем монослой клеток отмывали 2 раза раствором PBS, к клеткам добавляли раствор нейтральрота (33 мг/л) и инкубировали 3 часа при 37°C. После удаления раствора нейтральрот экстрагировали из живых окрашенных клеток раствором NaH_2PO_4 . Результаты просчитывали на автоматическом колориметре «Diagnostics Pasteur» при длине волны 540 нм. Концентрация препарата, ингибирующая значение OD при длине волны 540 нм на 50% по сравнению с клеточным контролем принималась за цитотоксическую дозу 50 (ЦД₅₀).

Противовирусную активность изучали методом ИФА в культуре клеток MDCK. В последнее время в химиотерапии вирусных инфекций для скрининга веществ на противовирусную активность в культуре клеток широко применяется модифицированный для этих целей метод иммуноферментного анализа (11,12,13,14). Кроме этого, указанный метод был с успехом применен также и для углубленного изучения противовирусного действия уже известных препаратов, в частности амантадина и его аналога ремантадина, ацикловира и но-

вого противовирусного препарата арбидола (15,16,17). Обычно для этих целей используют методы ингибирования БОА и ЦПД. Однако, в первом случае из-за использования агарового покрытия для получения ответа требуется несколько дней, эффект ЦПД развивается медленно, не всегда бывает убедительным и не оценивается количественно. Изложенными выше причинами объясняется все более широкое использование ИФА в химиотерапии различных инфекций. Суть метода состоит в следующем. После заражения клеток вируса на их поверхности через определенные интервалы времени начинается экспрессия вирусных антигенов, которые после фиксации клеток выявляются ИФА. Влияние различных веществ на уровень экспрессии вирусных полипептидов позволяет судить об их действии на репродукцию вируса в культуре клеток.

Клетки MDCK выращивали в 96-луночных платах фирмы «Costar» в 199 среде в присутствии 5% фетальной сыворотки телят 10 мМ глутамина до полного монослоя. Перед заражением вирусом клетки 3 раза промывали средой без сыворотки. Исследуемые вещества добавляли к клеткам в 2- 3-кратной концентрации в 100 мл 199 среды с трипсином 2 мкг/мл. К вирусному контролю добавляли по 100 мкл этой же среды, а к клеточному контролю по 200 мкл. После инкубации клеток с исследуемыми препаратами в течение 30 минут при 37°, в лунки, исключая клеточный контроль, добавляли по 100 мкл вируса, разведения которого были приготовлены также на среде 199 с трипсином. Далее планшеты инкубировали в атмосфере CO в течение 18 часов при температуре 37°. После инкубации клетки просматривали под инвертированным микроскопом, чтобы убедиться в отсутствии в них цитотоксических и цитопатических изменений. Убедившись в их отсутствии, среду удаляли и клетки фиксировали 80% ацетоном на PBS в течение 15 минут, хорошо высушивали и затем отмывали 3 раза PBS с 0,05% TWEEN 20. Эти и все дальнейшие процедуры отмывки проводили указанным раствором. Затем к клеткам добавляли по 100 мкл ИФА раствора (PBS с 1% фетальной сыворотки и 0,05% TWEEN 20), инкубировали при 37° 30 минут. После удаления раствора, к клеткам добавляли по 100 мкл МКА к внутренним (NP+M1) белкам вируса гриппа А, разведенных 1:4000 на ИФА растворе. Антитела были любезно предоставлены доктором А.Кендалом (Influenza Branch Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control, Atlanta, 30 минут в темноте до появления окраски, реакцию останавливали добавлением GA, USA). После инкубации с антителами в течение 1 часа при 37° и последующей трехкратной промывки в лунки вносили по 100 мкл IgG кролика против IgG мыши, меченных пероксидазой хрена (1:1000) и инкубировали еще 1 час при 37°. После 4-кратной промывки связанную пероксидазу выявляли добавлением в лунки 100 мкл 0,05% раствора ортофенилендиамина в 0,03 М цитратном буфере pH=5,0, содержащем 0,003% H₂O. Планшеты выдерживали 15-50 мкл 4Н H₂SO₄. Оптическую плотность измеряли при длине волны 490 нм на автоматическом

колориметре «Diagnostics Pasteur». В качестве контроля использовали лунки, не зараженные вирусом. Обычно OD в контроле не превышало 0,2. Наибольшее значение OD контроля вычитали из остальных значений OD. Для одного разведения вируса использовали 4 повтора, для которых вычисляли среднее значение OD. Процент ингибирования определяли, как отношение OD 490 опыта/OD 490 вирусного контроля $\times 100\%$.

При изучении нейраминидазной активности источником вирусной нейраминидазы служил вирус гриппа А /штамм PR/8/34, полученный с помощью дифференциального центрифугирования из аллантаоисной жидкости зараженных вирусом гриппа куриных эмбрионов и очищенный в градиенте 20-60% сахарозы. Исследуемые препараты прединкубировали с вирусом в течение 1 часа при 37°, после чего добавляли субстрат фетуин- -гликопротеид эмбриональной сыворотки телят («Koch-Light», Англия) и инкубировали еще 30 минут в тех же условиях. Ферментативную активность определяли по количеству отщепляемой от субстрата нейраминовой кислоты тиобарбитуровым методом по Уоррену. За 100% принимали активность вирусной нейраминидазы в контрольной пробе без препарата (10).

В качестве контроля ингибирования использовали краситель – Конго красный.

Действие гипорамина и его компонентов на синтез вирусспецифических белков в клетках изучали на модели инфицированных вирусом гриппа А/PR/8/34 культуры клеток МДСК. Множественность инфекции 100 БОЕ/клетку. Адсорбцию вируса на клетках проводили при 20°C в течение 1 часа. Клетки МДСК инфицировали со множественностью 100 БОЕ/клетку. Гипорамин в концентратиях 10 мкг/мл и 50 мкг/мл добавляли к клеткам в разное время. После 6 часов инкубации клетки лизировали солубилизирующим буфером и проводили электрофорез белков. Препараты вносили в виде суспензии после адсорбции вируса на 6 часов при 37°C. Затем клетки лизировали в солубилизирующем буфере для электрофореза. Белки тотальных клеточных лизатов фракционировали с помощью электрофореза в пластинах ПААГ по модифицированному методу Lammler в 10% диск-электрофорезе на приборе фирмы Bio-Rad. Гель окрашивали в растворе Кумасси G250 и сушили. Сканирование проводили на видеоденситометре фирмы Bio-Rad.

На основании проведенных исследований получены следующие данные.

В первой серии экспериментов при изучении действия гипорамина в различных концентрациях на репродукцию вируса гриппа А в клетках МДСК с использованием системы модифицированного ИФА показано, что гипорамин, начиная с концентрации 0,1 мкг/мл, оказывает ингибирующее действие на значение OD 490. Увеличение концентрации гипорамина до 5 мкг/мл вызывает дальнейшее уменьшение значения OD 490, которое остается практически постоянным даже при увеличении концентрации препарата до 20 мкг/мл. Поскольку значение OD 490 прямо пропорционально количеству вирусных антигенов,

экспрессирующихся на поверхности клеток, полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что гипорамин оказывает ингибирующее действие на репродукцию вируса гриппа А в клетках МДСК, причем с увеличением концентрации гипорамина его ингибирующий эффект увеличивается.

В следующей серии экспериментов с использованием метода ИФА изучали влияние основных компонентов гипорамина в концентрации 1 мкг/мл и 5 мкг/мл на экспрессию вирусных антигенов в клетках МДСК, инфицированных вирусом гриппа А/Япония/305/57 Установлено (табл.1), что активные компоненты гипорамина (казуаринин и казуариктин в смеси) в концентрациях 1 мкг/мл и 5 мкг/мл оказывали на вирусную репродукцию сходный с гипорамином эффект. Добавление к клеткам в этих же концентрациях квебрахита (неактивного компонента) не оказывало действия на значение OD 490. Добавление смеси, состоящей из казуаринина, стриктинина и изостриктинина, в концентрации 1 мкг/мл оказывало незначительное ингибирующее действие на значение OD 490, однако при увеличении концентрации этой смеси до 5 мкг/мл ингибирующий эффект на значение OD 490 возрастал до 90% и был сходен с действием гипорамина в этой же концентрации. Взятый в качестве контроля ремантадин в концентрации 5 мкг/мл в этой системе ингибировал значение OD 490 также на 90%. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что гипорамин и его наиболее активные компоненты (казуаринин и казуариктин), оказывают одинаковое ингибирующее действие на репродукцию вируса гриппа А /Япония/305/57 в клетках МДСК, Добавление менее активных компонентов (смесь казуаринина со стриктинином и изостриктинином) на вирусную репродукцию снижало эффект, а неактивный компонент (квебрахит) вообще не подавлял экспрессию вирусных антигенов в инфицированных клетках мышей.

Таблица 1

Влияние гипорамина и его компонентов на репродукцию вируса гриппа
А/Япония/305/57 в клетках МДСК

Препараты	Процент подавления OD ₄₉₀ при различных концентрациях ,(мкг/мл)	
	1,0	5,0
Гипорамин	49	82
Квебрахит	0	0
Казуаринин с казуариктином	46	92
Казуаринин с изостриктинином и стриктинином	16	90

При изучении влияния гипорамина и его основных компонентов на нейраминидазную активность вируса гриппа А/PR/8/34 в первой серии экспериментов установлено, что гипорамин в концентрации 10 мкг/мл практически не оказывал никакого действия на активность вирусной нейраминидазы. Однако, увеличение концентрации гипорамина в системе до 25 мкг/мл приводило к эффекту ингибирования, который увеличивался до 90% при повышении концентрации препарата до 200 мкг/мл. Возрастание ингибирующего эффекта наблюдалось и при увеличении времени инкубации. Так, инкубация гипорамина (в концентрации 100 мкг/мл) в течение 1 часа приводила к ингибированию активности вирусной нейраминидазы на 46%, с увеличением времени инкубации до 17 часов ингибирующий эффект увеличивался до 86%. Полученные результаты позволили предположить, что уязвимым звеном в вирусной репродукции при действии гипорамина является нарушение им нейраминидазной активности вируса, поэтому представлялось целесообразным выявить взаимосвязь между противовирусной активностью компонентов гипорамина и их влиянием на активность вирусной нейраминидазы. Как видно из таблицы 2 смесь активных компонентов гипорамина - казуаринина и казуариктина, обладающая выявленной с помощью ИФА противовирусной активностью в культуре клеток, сходной с активностью гипорамина, оказывала ингибирующее действие и на нейраминидазную активность вируса А/PR/8/34. В то же время квебрахит (неактивный компонент гипорамина) практически не влиял действия на эту активность. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что одна из причин, обуславливающих противовирусный эффект гипорамина в культуре клеток связана с его воздействием на нейраминидазную активность вирионов.

Таблица 2

Влияние гипорамина и его компонентов на активность нейраминидазы вируса гриппа А/PR/8/34

Препараты	Противовирусная активность в к/кл MDCK, выявленная ИФА	Отщепление нейрамин. к-ты за 40 мин. (мкмоль/1 мкг вирусного белка)	Подавление активности нейраминидазы (%)
Контроль (без препарата)	-	1,520	-
Гипорамин	49	0,551	64
Казуаринин +казуариктин	46	0,540	63

Квебрахит	0	1,450	5
Конго красный	-	0,020	97

В следующих экспериментах изучено влияние гипорамина в одноцикловом опыте на синтез вирусных белков в клетках MDCK, инфицированных вирусом гриппа A/PR/8/34. Результаты исследования показали, что гипорамин, добавленный к клеткам до их инфицирования, практически полностью ингибировал накопление вирусных белков (каналы 6,7,8,9), в то время как добавление гипорамина к клеткам сразу после адсорбции вируса на них практически не оказывало заметного влияния на этот процесс (каналы 10,11). Внесение гипорамина в систему через 2 часа после инфицирования клеток, когда при данной множественности заражения в одноцикловом опыте начинаются вирусспецифические синтезы, также не оказывало никакого действия на синтез вирусспецифических белков (канал 12). Следует отметить также, что гипорамин не подавлял синтез клеточных белков (канал 2), тогда как взятый в качестве контроля противовирусный препарат бонафтон оказывал сильное подавляющее действие на этот процесс (канал 5). Полученные результаты свидетельствуют, что гипорамин оказывает подавляющее действие на накопление вирусных белков при добавлении его к клеткам перед адсорбцией вируса на них, при этом непосредственно на синтез вирусспецифических белков в клетках, а также на накопление клеточных белков гипорамин никакого влияния не оказывает.

Результаты предыдущих опытов по изучению действия гипорамина на накопление вирусспецифических белков дают возможность предположить его влияние на начальный этап вирусной репродукции – адсорбцию, то есть связывание поверхностных белков вируса гриппа с сиалсодержащими остатками клеточных рецепторов. Для проверки этого предположения далее изучено действие гипорамина на адсорбцию вируса гриппа A/Япония/305/57 в клетках MDCK. При изучении влияния гипорамина на адсорбцию вируса гриппа A/Япония/305/57 на клетках MDCK с помощью ИФА установлено, что добавление гипорамина в различных концентрациях к клеткам за один час до адсорбции оказывало ингибирующее действие на экспрессию вирусных белков, выявляемую методом ИФА, увеличивающееся с 45% при концентрации гипорамина 0,5 мкг/мл до 90% при его концентрации 10 мкг/мл. Добавление гипорамина к клеткам после адсорбции вируса на них не оказывало заметного влияния на значение OD 490.

Представленные результаты исследований совпадают с данными, полученными при изучении действия гипорамина на накопление вирусных белков и в совокупности с ними дают возможность предположить влияние препарата на один из ранних этапов вирусной репродукции – адсорбцию вирусных частиц на поверхности клеток. Однако, для того чтобы сделать окончательные выводы, необходимо изучить влияние гипорамина непосредственно на связывание вирионов с клеточными рецепторами известными в настоящее время молекулярно-биологическими методами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hay A.J., Wolstenholme A.J., Skehel J.J. et al, (1985), - EMBO J., v.4, p.3021-3024.
2. Rossmann M., (1988), - Nature, v.333, p.392-393.
3. Matrosovich M.N., (1989), - FEBS letters, v.252, N 1-2, p.1-4.
4. Voris L.P., Newell P.M., (1990), - Seminars in Respiratory Diseases, v.7, N 1, p.61-70.
5. De Clerco F., (1982), - Biochem.J., v.205, p.1-13.
6. Belche R.B., Hay A.J., (1989), - J. Respiratory Diseases, Suppl. Dezember, p.52-60.
7. Laver W.G., Luo M., Bossart P.J. et al., (1988), - v.167, p.621-624.
8. Air J.M., Els M.C., Brown L.E. et al., (1985), - Virology, v.145, p.237-248.
9. Air J.M., Laver W.G., (1989), - PROTEINS, Structure, Function and Genetics, v.6, p.341-356.
10. Warren L.J., (1959), - J. Biol. Chem., v.234, p.1971-1975.
11. Егоров А.М., (1988), - Журнал Всесоюзного химического общества им. Д.И. Менделеева, т.33, № 5, с.494-501.
12. Тертон М., (1991), - Новые методы иммуноанализа, М., Мир, с.14-24.
13. Sominina A., Kozeletskaya K., Medvedeva N., (1992), 4th Biennial Conference on Chemotherapy of Infection Diseases and Malignancies, Prague, Czechoslovakia, abs.8.
14. Фадеева Н.И., Ленева И.А., Панишева Е.К. и др., (1992), - Хим.-фарм. журнал, №№ 9-10, с.17-20.
15. Kendal A.J., Klenk H.D., (1991), - Arch. Virology, v.119, p.265-273.
16. Reising S.F., Quinn K., Lindeman S., (1993), - Antiviral Research, v.20,

Suppl.1, p.153.

17. Ленева И.А., Фадеева Н.И., Федякина И.Т. и др., Применение иммуноферментной индикации вирусспецифических антигенов в изучении нового противогриппозного препарата арбидола, Хим.-фарм.журнал в печати.

18. Герасина С.Ф., Фадеева Н.И., Першин Г.Н., Николаева И.С., (1980), -
Хим.-фарм.журнал, № 12, с.19-23.

19. Руденко Л.Г., Киселев О.И., (1993), - Вопросы вирусологии, № 3, с.139-141.

SHIPULINA L.D., LENEVA I.A., FEDYAKINA I.T.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

ON THE MECHANISM OF HIPORAMIN ACTION.

There has been studied cytotoxic and antiviral activity of Hiporamin. Antiviral effect of the drug was estimated by enzyme immunoassay method, by antiviral neuraminidase activity determination and by assess of an effect of the drug on synthesis virusspecific proteins.

ШИПУЛИНА Л.Д., ЛЕНЕВА И.А., ФЕДЯКИНА И.Т.

ВИЛАР, Москва, Россия

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ГИПОРАМИНА МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА В ОТНОШЕНИИ РЕСПИРАТОРНО- СИНЦИТИАЛЬНОГО ВИРУСА

Одним из частых и тяжелых заболеваний у новорожденных и маленьких детей является инфекция нижних дыхательных путей респираторного тракта, вызванная респираторно-синцитиальным вирусом. Заболевание протекает с тяжелыми симптомами ОРВИ, часто приводит к осложнениям в виде пневмоний, почти при каждой вспышке инфекции описаны летальные исходы (1). В настоящее время единственным эффективным препаратом, применяемым при респираторно-синцитиальной инфекции является виразол, обладающий, однако, рядом выраженных токсических эффектов, что ограничивает возможность его применения (2). Аэрозольное применение виразола разрешено только для маленьких детей с тяжелыми формами инфекции (3). Для аналога виразола – рибамидила, применяемого при лечении и профилактике гриппозных инфекций, получены экспериментальные данные по его активности против респираторно-синцитиального вируса в культуре клеток *in vitro* и на модели хлопковых крыс *in vivo* (4). В связи с этим несомненно актуален поиск новых препаратов против респираторно-синцитиальной инфекции. Однако первичный поиск таких препаратов

в культуре клеток *in vitro* затруднен в связи с особенностями репродукции респираторно-синцитиального вируса. Вирус размножается в культуре клеток в очень низких титрах, вызываемый им цитопатический эффект развивается очень медленно в течение 5-7 дней и при этом не является убедительным.

Для быстрой количественной и объективной оценки активности противовирусных препаратов в культуре клеток и в отношении респираторно-синцитиального вируса разработана тест-система на основе метода ИФА (8). Целью нашей работы явилось изучение в этой системе нового противовирусного препарата растительного происхождения гипорамина, разрешенного Минздравом России для лечения и профилактики гриппа.

Материалы и методы

В опытах использовали респираторно-синцитиальный вирус штамм Long, клетки МК2. Клетки выращивали на среде Игла с добавлением 7% фетальной дином. сыворотки телят. Гипорамин в опытах сравнивали с виразолом (фирма ION) и реманта

Для определения цитотоксического действия препаратов клетки МК2 выращивали в 96-луночных планшетах фирмы «Costar» в 199 среде в присутствии 5% сыворотки телят и 10 мМ глутамин до полного монослоя. Затем вносили в планшеты ряд разведений препаратов. После инкубации в течение 72 часов при 37°C визуально оценивали состояние клеточного монослоя. Затем монослой клеток отмывали 2 раза раствором PBS, к клеткам добавляли раствор нейтральрота (33 мг/л) и инкубировали 3 часа при 37°C. После удаления раствора нейтральрот экстрагировали из живых окрашенных клеток раствором NaH_2PO_4 . Для определения вирусной нагрузки использовали тест-систему «Diagnostics Pasteur» (ИФА) для определения вирусной нагрузки. Оптическую плотность (ОД) при длине волны 540 нм на 50% по сравнению с клеточным контролем принималась за цитостатическую дозу 50 (ЦД₅₀). Для гипорамина она составила 70 мкг/мл, для виразола – 80 мкг/мл, для *ремантадина* – 60 мкг/мл.

Для изучения противовирусной активности препаратов методом ИФА в культуре клеток клетки МК2 выращивали в 96-луночных планшетах фирмы «Costar» в среде Игла в присутствии 5% фетальной сыворотки телят 10 мМ глутамин до полного монослоя. Перед заражением вирусом клетки 3 раза промывали средой без сыворотки. Исследуемые вещества добавляли к клеткам в 2-кратной концентрации в 100 мл среды Игла. К вирусному контролю добавляли по 100 мкл этой же среды, а к клеточному контролю – по 200 мкл. После инкубации клеток с препаратами в течение 30 минут при 37°, в лунки, исключая клеточный контроль, добавляли по 100 мкл вируса, разведения которого были приготовлены также на среде Игла. Далее планшеты инкубировали в атмосфере CO_2 в течение 36 часов при температуре 37°.

После инкубации клетки просматривали под инвертированным микроскопом, чтобы убедиться в отсутствии в них цитотоксических и цитопатических изменений, после чего среду удаляли и клетки фиксировали 80% ацетоном на PBS в течение 15 минут, хорошо высушивали и затем отмывали 3 раза PBS с 0,05% TWEEN 20. Все дальнейшие процедуры отмывки проводили указанным раствором. Затем к клеткам добавляли по 100 мкл ИФА раствора (PBS с 1% фетальной сыворотки и 0,05% TWEEN 20), инкубировали при 37° 30 минут. После удаления раствора к клеткам добавляли по 100 мкл МКА к F белку респираторно-синцитиального вируса, разведенных 1:1000 на ИФА растворе. Антитела были любезно предоставлены доктором А.Кандалом (Influenza Branch Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control, Atlanta, GA, USA). После инкубации с антителами в течение 1 часа при 37° и последующей трехкратной промывки в лунки вносили по 100 мкл 0,05% раствора ортофенилендиамина в 0,03 М цитратном буфере pH=5,0, содержащем 0,003% H₂O₂. Планшеты выдерживали 15-30 минут в темноте до появления окраски, реакцию останавливали добавлением 50 мкл 4Н H₂SO₄. Оптическую плотность измеряли при длине волны 490 нм на автоматическом колориметре «Diagnostics Pasteur». В качестве контроля использовали лунки, не зараженные вирусом. Обычно OD в контроле вычитали из остальных значений OD. Для полного разведения вируса использовали 4 повтора, для которых вычисляли среднее значение OD. Процент ингибирования определяли как отношение OD 490 опыта/OD 490 вирусного контроля X 100%.

Результаты и обсуждение

Известно, что специфический ингибирующий эффект активного препарата на вирусную репродукцию усиливается с увеличением его концентрации и уменьшается с увеличением множественности заражения клеточной культуры вирусом.

В первой серии экспериментов нами было изучено влияние гипорамина, взятого в различных концентрациях, на репродукцию респираторно-синцитиального вируса штамм Long в клетках МК2. Для сравнения были использованы виразол (активный в отношении респираторно-синцитиальной инфекции) и ремантадин (неактивный в отношении данной инфекции). Предварительно, для них в клетках HeLa определили цитотоксическую дозу 50 (ЦТД₅₀): для гипорамина 70 мкг/мл, для виразола 80 мкг/мл, для ремантадина – 60 мкг/мл. Из данных, представленных в таблице, видно, что добавление гипорамина к инфицированным клеткам в низкой концентрации (1 мкг/мл) уже вызывает ингибирование величины OD 490 на 21,8%, с повышением концентрации гипорамина до 10 мкг/мл процент ингибирования увеличивается до 73.

Таблица

Влияние различных концентраций противовирусных препаратов на репродукцию
РС-вируса штамм Long в клетках МК 2

<i>Препараты</i>	<i>Концентрации препаратов, мкг/мл</i>				
	<i>1</i>	<i>5</i>	<i>7</i>	<i>10</i>	<i>20</i>
	<i>Подавление OD 490, %</i>				
<i>Гипорамин</i>	<i>21,8</i>	<i>33</i>	<i>51,8</i>	<i>73,1</i>	<i>75</i>
<i>Виразол</i>	<i>34,9</i>	<i>52,2</i>	<i>-</i>	<i>61,9</i>	<i>79,6</i>

Дальнейшее увеличение концентрации гипорамина практически не меняло процент ингибирования и он оставался постоянным на уровне 70-75. Значение величины МИК₅₀ для гипорамина в нашей системе составляло примерно 7 мкг/мл, при этом химиотерапевтический индекс (ХТИ) равнялся 10. Виразол вызывал ингибирование величины OD 490, причем процент ингибирования также повышался с увеличением концентрации виразола, при этом значение величины МИК₅₀ для виразола составляет 5 мкг/мл, а химиотерапевтический индекс равен 16. Ремантадин, взятый нами в качестве контроля не оказывал влияния на значение величины OD 490.

В следующей серии экспериментов изучали взаимосвязь ингибирующего эффекта гипорамина на репродукцию респираторно-синцитиального вируса в клетках МК2 с множественностью их инфицирования. После добавления гипорамина клетки инфицировали с различной множественностью заражения (от 0,1 TCD/кл. до 10 TCD/кл.). Установлено, что ингибирующий эффект гипорамина на вирусную репродукцию обратно пропорционален множественности заражения клеточной культуры вирусом от 0,1 TCD/кл. до 10 TCD/кл: ингибирование вирусной репродукции уменьшалось с 65,5% до 13,8%. Такие же данные получены и с виразолом. Ремантадин не оказывал практически никакого действия на репродукцию респираторно-синцитиального вируса в клетках МК 2 при любой множественности заражения.

В следующей серии экспериментов изучали действие гипорамина на вирусную репродукцию в зависимости от времени его добавления: гипорамин добавляли к клеточной культуре за 30 минут до и 30 минут спустя после инфицирования клеток вирусом. Установ-

лено, что добавление гипорамина к клеточной культуре через 30 минут после инфицирования клеток практически не оказывало влияния на значение величины OD 490, в то время как добавление его за 30 минут до инфицирования вызывало ее значительное ингибирование. Поскольку значение OD 490 прямо пропорционально экспрессии вирусных антигенов на клеточной поверхности, полученные данные позволяют сделать вывод о том, что гипорамин ингибирует репродукцию респираторно-синцитиального вируса только при добавлении его к клеткам до инфицирования. Это позволяет предположить, что его эффект на вирусную репродукцию респираторно-синцитиального вируса, так же как и в случае с вирусом гриппа, связан с ранними ее стадиями.

Заключение:

С использованием метода иммуноферментного анализа показано, что гипорамин ингибирует репродукцию респираторно-синцитиального вируса в культуре клеток, причем его ингибирующий эффект на вирусную репродукцию усиливается с увеличением его концентрации (21,8% - 1 мкг/мл; 73% - 20 мкг/мл) и уменьшается с увеличением множественности заражения клеток вирусом (65,5% - 0,1 TCD/кл. до 13,8% - 10 TCD/кл.). Сравнительное изучение в системе ИФА гипорамина и виразола показало, что гипорамин ингибировал вирусную репродукцию практически на уровне виразола. Минимальные ингибирующие концентрации 50 (МИК 50) этих препаратов мало отличаются и равны 5 мкг/мл для виразола и 7 мкг/мл для гипорамина. Установлено также, что ингибирующий эффект на репродукцию респираторно-синцитиального вируса связан с его воздействием на ее ранние этапы. Полученные данные перекликаются с результатами экспериментов по изучению механизма действия гипорамина в отношении вируса гриппа, показавшие, что препарат не действует на вирусную транскрипцию и трансляцию, не обладает эффектом на активность нейраминидазы-поверхностного гликопротеина вируса гриппа, участвующего в расщеплении гликозидной части нейраминовой кислоты с полисахаридной частью клеточного рецептора. С использованием метода ИФА показано, что гипорамин оказывал ингибирующий эффект на репродукцию вируса гриппа А/Япония/305/57 только при добавлении его к клеткам до их инфицирования. Совокупность этих данных позволяют связать ингибирующий эффект гипорамина на репродукцию вируса гриппа и респираторно-синцитиального вируса с его воздействием на ее ранние стадии.

ЛИТЕРАТУРА

1. McIntosh K, Chanock R.M., - (1985), Respiratory syncytial virus, Virology, New York, ch.54, p.1285-1303.
2. Hall C.B., McBrinde J.T., Walsh E.E. et al., (1983), - New Engl.J.Med., v.308, N 24, p.1443-1448.
3. Hemming V.G., Rodriguez W., Kim H.W. et al, (1987), - Antimicrob. Agents Chemotherapy, v.31, N 12, p.1882-1886.
4. Гусева Е.М., Чижев Н.П., (1991), - Вопросы вирусологии, т.4, с.295-297.
5. Belche R.B., Hay A.J., (1989), - J.Respir.Diseases, Suppl.Dezember, 52-60.
6. Kendal A.P., Klenk H.D., (1991), - Archives Virol., v.119, p.265-273.
7. Ленева И.А., Фадеева Н.И., Федякина И.Т. и др., (1994), - Хим.-фарм. журнал, в печати.
8. Anderson L.J., Hierholzer J.C., Bingham P.J., Stone J.O., (1985), - J.Clin.Microbiology, v.22, N 6, p.1050-1053.

SHIPULINA L.D., LENEVA I.A., FEDYAKINA I.T.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

EXPERIMENTAL STUDY OF HIPORAMIN EFFICIENCY BY ENZYME IMMUNOASSAY AGAINST RS VIRUS.

The aim of this study was the Hiporamin estimation in respect of RS virus in vitro. Our results showed a high antiviral effect of Hiporamin on MK-2 cells infected by RS virus, strain Long. This inhibition effect can be compared with antiviral effect of Virasol.

КОЛХИР В.К., ОМЕЛЬНИЦКИЙ П.П., САКОВИЧ Г.С., ГЛАЗОВА Н.Г., АЛИБЕКОВ С.Д., ШКАРЕНКОВ А.А., СОКОЛЬСКАЯ Т.А., ВИЧКАНОВА С.А., ЗВОНКОВА Е.Н.,
ПИНЕЕВ С.А., КУЗНЕЦОВ Ю.Б. КРУТИКОВА Н.М.

ВИЛАР, Москва, Россия

ДИГИДРОЭРГОКРИСТИН – АЛЬФА-АДРЕНОЛИТИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

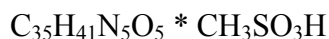
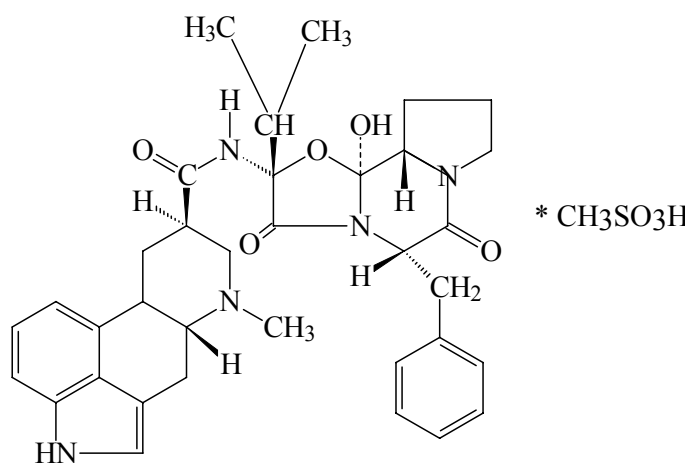
Дигидроэргокристин - известное с начала 30-х годов соединение. Его получают из эргокристина, выделяемого из рожков спорыньи определенных ("эргокристиновых") штаммов. По химической структуре он относится к группе эрготоксиновых эргоалкалоидов [1].

Для дигидрированных алкалоидов этой группы характерным является выраженное альфа-адреноблокирующее действие. Они применяются в медицинской практике главным образом при нарушениях мозгового кровообращения, при мигрени, при последствиях че-

репно-мозговых травм, а также при нарушениях периферического кровообращения: болезни Бюргера, болезни Рейно, при транзиторной артериальной гипертензии, нарушениях кровообращения в сетчатке глаза и др. [1, 2].

К настоящему времени хорошо изучены фармакологические свойства дигидроэргокристина. Основными направлениями его фармакологического действия, установленного экспериментально и подтвержденного в клинической практике, являются регулирующее влияние на мозговой и периферический кровоток, выраженная центральная и периферическая альфа-адренолитическая активность, венотоническое действие [2, 3]. При этом, дигидроэргокристин чаще используется в виде соли метансульфоновой кислоты (мезилата). Препараты дигидроэргокристина выпускаются под разными фирменными названиями: DECME ("Spitzner"), ENIRANT("Desitin Werke"), NEHYDRIN("TAD") - (Германия), DIERTINE - (Испания), DIERTINA - (Италия, Швейцария), INSIBRIN ("Byk Liprandi") - (Аргентина)[4].

Во ВНИИ лекарственных и ароматических растений в результате многолетней селекционной работы получен штамм спорыньи, позволяющий выделять из него индивидуальный эргокристин в значительных количествах. На основе этого вещества с использованием известных методов был получен дигидроэргокристин-мезилат (Рис.1). Установлена идентичность получаемого продукта используемому в медицинской практике дигидроэргокристину, высокая степень его химической чистоты. Стандартизация субстанции дигидроэргокристина, а также его лекарственной формы – таблетки по 0,00025 г, была проведена с использованием современных физико-химических методов исследования – парамагнитного резонанса и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Данные аналитические методы позволили определить подлинность и посторонние примеси в субстанции, однородность дозирования, примеси и количество действующего вещества в таблетках дигидроэргокристина.



М.м. 707,7

Рис. 1. Структура дигидроэргокристина мезилата

Изучение специфической фармакологической активности дигидроэргокристина, а именно оценка его влияния на мозговой кровоток, артериальное давление и прессорный вазомоторный рефлекс у экспериментальных животных, осуществляли на базе лаборатории фармакологии цереброваскулярных расстройств НИИ фармакологии РАМН (руководитель лаборатории профессор Р.С. Мирзоян). Опыты проводили на кошках массой 3,2-4,0 кг под общей анестезией (40 мг/кг хлоразола, 400 мг/кг уретан) в условиях искусственной вентиляции легких ($p\text{CO}_2 = 35\text{-}40$ мм рт.ст.). Препарат вводили внутривенно в двух дозах: 0,5 и 1 мг/кг. Регистрацию мозгового кровотока осуществляли с помощью ультразвукового (фирма “Трансоник”, США) и электромагнитного (РКЭ-2БИ) расходомеров крови в системе каротидных артерий. Датчик расходомера диаметром 1-2 мм помещали на сонную артерию после тщательной перевязки всех экстракраниальных сосудов. Для регистрации артериального давления полиэтиленовый катетер вставляли в бедренную артерию. Для получения прессорной реакции артериального давления производили электрическую стимуляцию большеберцового нерва следующими параметрами: 20 вольт, 20-40 гц, 1 мсек, в течение 15 с. С целью изучения влияния дигидроэргокристина на центральную регуляцию кровообращения регистрировали биоэлектрическую активность в симпатических нервах кошки. Запись исследуемых показателей производили на мингографе. Результаты опытов обрабатывали статистически с использованием критерия Стьюдента.

Проведенные опыты показали (табл.1), что дигидроэргокристин в дозе 0,5 мг/кг в/в вызывал снижение мозгового кровотока в среднем на $53 \pm 6,1\%$. Уровень артериального давления при этом также резко снижался в среднем на $34 \pm 8,6\%$. Уменьшение мозгового кровотока и снижение уровня артериального давления начинало проявляться с 1-ой минуты после введения препарата, и продолжалось до 40-60 минут наблюдения. В дозе 1 мг/кг дигидроэргокристин также вызывал уменьшение мозгового кровотока в среднем на $65 \pm 6,4\%$ ($p < 0,05$). Эффект препарата начинал развиваться сразу же после его введения и продолжался в течение всего эксперимента (45-75 мин). Следует отметить, что при низких показателях уровня артериального давления и мозгового кровотока (80 мм рт.ст. и 3 мл/мин) препарат вызывал кратковременное увеличение показателей соответственно на 75% и 35% в течение 6-10 мин, затем наблюдалось их снижение.

Таблица 1.

Влияние дигидроэргокристина на мозговой кровоток, артериальное давление и
прессорный вазомоторный рефлекс у кошек

ВАРИАНТ ОПЫТА	ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОДИНАМИКИ, $M \pm m$				ПРЕССОРНЫЙ ЭФФЕКТ, $M \pm m$	
	Кровоток в системе сонных артерий, мл/мин	Эффект в % к исходно- му уров- ню	Артериаль- ное давле- ние, мм.рт.ст.	Эффект в % к исходному уровню	Артери- аль- ное давле- ние, мм.рт.ст.	Эффект в % к исход- ному уровню
Исходное состояние	15,4 \pm 3,3	-	140,0 \pm 31,1	-	18,4 \pm 4,4	-
Дигидроэргокристин, 0,5 мг/кг	7,0 \pm 2,2	-53 \pm 6,1	94,0 \pm 29,2	-34 \pm 8,6	4,0 \pm 1,2*	- 71 \pm 7,2 *
Исходное состояние	19,0 \pm 3,4	-	131,3 \pm 31,6	-	14,0 \pm 4,2	-
Дигидроэргокристин, 1,0 мг/кг	6,7 \pm 1,8*	- 65 \pm 6,4*	77,5 \pm 17,8	-39 \pm 8,4	1,0 \pm 1,0*	- 92 \pm 4,9

* - $p < 0,05$ по сравнению с исходным уровнем

При изучении влияния дигидроэргокристина на нервную регуляцию кровообращения было показано, что препарат вызывает угнетение прессорного вазомоторного рефлекса и постепенное угнетение биоэлектрической активности в симпатических нервах почки. Так, в дозе 0,5 мг/кг дигидроэргокристин угнетал прессорный вазомоторный рефлекс в среднем на 71 \pm 7,2% ($p < 0,05$, табл. 1). В дозе 1 мг/кг препарат вызывал угнетение прессорного рефлекса в среднем на 92 \pm 4,9% ($p < 0,05$). Эффект развивался сразу же после введения (3-5 минут) и продолжался до конца эксперимента. Восстановление показателей не наблюдали.

В качестве препарата сравнения в работе использовали известный своим влиянием на мозговое кровообращение дигидроэрготоксин в аналогичных условиях. Проведенные опыты показали, что дигидроэрготоксин в дозе 1 мг/кг при внутривенном введении у кошек под общей анестезией вызывает уменьшение мозгового кровотока в среднем на 54 \pm 6,7%. Препарат также снижал уровень артериального давления в среднем на 43 \pm 6,6%. Прессорный вазомоторный рефлекс под влиянием дигидроэрготоксина угнетался на 100%. Препарат также угнетал тоническую активность и рефлекторные ответы в симпатических нервах почки. Эффекты препарата начинали развиваться с 1 минуты и наблюдались в течение эксперимента.

Таким образом, проведенное исследование позволило установить, что дигидроэргокристин вызывает уменьшение мозгового кровотока, которое, по-видимому, обусловлено выраженным гипотензивным эффектом препарата. Этот эффект несколько усиливается с увеличением дозы, но разница статистически незначима. Дигидроэргокристин оказывает депримирующее влияние на нервную регуляцию кровообращения. На это указывает его угнетающее влияние на прессорный вазомоторный рефлекс и биоэлектрическую активность в симпатическом нерве почки. Эффекты препарата наступают в первые 1-3 минуты после его введения.

ния и продолжаются в течение часа. В дозе 1 мг/кг влияние дигидроэргокристина на нервную регуляцию кровообращения немного сильнее, чем в дозе 0,5 мг/кг.

Способность дигидроэргокристина блокировать прессорный вазомоторный рефлекс и биоэлектрическую активность в симпатических нервах указывает на его способность предупреждать развитие констрикторных рекаций мозговых сосудов адренергической природы.

При сравнительном изучении дигидроэргокристина и дигидроэрготоксина было показано, что эффекты препаратов на исследуемые показатели существенно не отличаются друг от друга. Следует отметить, что как дигидроэргокристин, так и дигидроэрготоксин при введении животным с низкими показателями уровня артериального давления и мозгового кровотока вызывали повышение показателей гемодинамики в течение 5-10 минут, а затем наступало их снижение, как и в других экспериментах.

В отделе медицины ВИЛАР было также изучено влияние дигидроэргокристина на показатели центральной гемодинамики у кошек с использованием полиграфа ИМ-6000. В экспериментах использовали кошек массой 2-3 кг под общим наркозом (барбитал 100 мг/кг, внутривенно). Препарат вводили внутривенно в дозах 0,1 и 5 мг/кг. Показатели гемодинамики - частоту сердечных сокращений (ЧСС) и артериальное давление (АД), измеряли с помощью электроманометрии сонной артерии; для регистрации ударного, минутного объемов крови (УОК, МОК) и максимальной скорости выброса крови левым желудочком сердца (V_{\max}) проводили флуориметрию восходящей части дуги аорты при вскрытой грудной клетке и искусственном дыхании; кровоток в кишечнике и конечностях оценивали по изменению амплитуды фотоплетизмограммы (АФП) с помещением датчиков фотоплетизмографа на брыжейку тонкой кишки и заднюю лапку. Общее периферическое сопротивление сосудов (ОПСС) рассчитывали по формуле: ОПСС \times среднее АД/МОК. Все указанные выше параметры записывали одновременно на японском полиграфе ИМ-6000 фирмы "Nihon Kohden" и обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия t-Стьюдента.

Установлено, что дигидроэргокристин в дозах 0,1 и 1 мг/кг у наркотизированных кошек вызывал тенденцию к снижению ЧСС и АД на фоне уменьшения МОК (табл. 2). Увеличение дозы до 5 мг/кг приводило к достоверному снижению систолического и диастолического АД сразу же после введения препарата. Гипотензивное действие дигидроэргокристина наблюдали в течение всего опыта (60 мин) с максимумом снижения среднего АД на 24% ($p < 0,05$). Одновременно уменьшалась ЧСС с нарастанием эффекта к концу опыта, достигая 41% ($p < 0,05$) снижения по сравнению с исходными данными. Уменьшался МОК, максимально на 35% ($p < 0,05$). Изменения показателей центральной гемодинамики сопровождались снижением АФП лапки на 56% ($p < 0,05$) и увеличением АФП кишки на 54% ($p < 0,05$). Таким образом, в данных условиях экспериментов было установлено, что дигидроэргокристин об-

ладает гипотензивным и брадикардическим действием, а также вызывает уменьшение кровотока в задних конечностях, что характерно для действия некоторых эрготоксиновых алкалоидов.

Таблица 2.

Влияние дигидроэргокристина на показатели гемодинамики наркотизированных кошек

Показатель	Дозы, мг/кг	Исходный уровень	Изменение показателя от исходного уровня					
			3 мин	5 мин	10 мин	20 мин	30 мин	60 мин
1	2	3	4	5	6	7	8	9
ЧСС	0,1	194 \pm 20 100	173 \pm 20 89	169 \pm 17 87	172 \pm 19 89	166 \pm 19 86	163 \pm 22 84	143 \pm 11 74
	1	182 \pm 18 100	146 \pm 10 80	144 \pm 10 79	132 \pm 11 73	133 \pm 12 73	130 \pm 10 71	123 \pm 6* 66
	5	195 \pm 14 100	153 \pm 9* 78	146 \pm 8* 75	144 \pm 9* 74	140 \pm 10* 72	130 \pm 8* 67	116 \pm 9* 59
АДс	0,1	135 \pm 5 100	120 \pm 7 89	120 \pm 8 89	121 \pm 7 90	123 \pm 6 91	126 \pm 5 93	123 \pm 10 91
	1	120 \pm 10 100	127 \pm 19 106	120 \pm 12 100	108 \pm 7 90	111 \pm 3 93	110 \pm 2 92	112 \pm 3 93
	5	132 \pm 6	98 \pm 6*	95 \pm 7*	95 \pm 5*	96 \pm 6*	100 \pm 4*	101 \pm 5*
АДд	0,1	79 \pm 5 100	69 \pm 9 87	69 \pm 8 87	71 \pm 8 90	73 \pm 9 92	74 \pm 9 94	71 \pm 11 90
	1	70 \pm 10 100	80 \pm 18 114	70 \pm 12 100	65 \pm 9 93	62 \pm 5 89	61 \pm 5 87	61 \pm 5 87
	5	73 \pm 7 100	50 \pm 5* 68	47 \pm 3* 64	48 \pm 3* 66	51 \pm 4* 70	53 \pm 4 73	57 \pm 4 78
АДп	0,1	56 \pm 10 100	51 \pm 10 91	51 \pm 10 91	50 \pm 11 89	50 \pm 8 89	52 \pm 8 93	52 \pm 5 93
	1	50 \pm 3 100	47 \pm 5 94	50 \pm 6 100	45 \pm 3 90	51 \pm 3 102	49 \pm 5 98	51 \pm 5 102
	5	59 \pm 4 100	53 \pm 6 90	48 \pm 7 81	47 \pm 5 80	45 \pm 4 76	47 \pm 3 80	44 \pm 3* 75

АДср	0,1 %	107 \pm 2 100	95 \pm 5 89	95 \pm 6 89	96 \pm 6 90	118 \pm 26 110	120 \pm 26 112	97 \pm 10 91
	1 %	95 \pm 10 100	103 \pm 18 106	95 \pm 12 100	87 \pm 8 92	85 \pm 5 89	84 \pm 4 88	85 \pm 4 89
	5 %	94 \pm 6 100	75 \pm 5* 80	71 \pm 4* 76	72 \pm 4* 77	74 \pm 5* 79	77 \pm 3* 82	79 \pm 4 84
УОК	0,1 %	2,4 \pm 0,3 100	2,4 \pm 0,3 100	2,5 \pm 0,4 104	2,5 \pm 0,4 104	2,5 \pm 0,4 104	2,9 \pm 0,4 121	2,8 \pm 0,4 117
	1 %	2,5 \pm 0,2 100	3,0 \pm 0,1 120	2,9 \pm 0,2 116	3,0 \pm 0,1 120	3,1 \pm 0,2 124	3,2 \pm 0,3 128	3,2 \pm 0,4 128
	5 %	2,7 \pm 0,2 100	2,6 \pm 0,1 96	2,5 \pm 0,2 93	2,7 \pm 0,1 100	2,7 \pm 0,2 100	2,9 \pm 0,2 107	2,9 \pm 0,3 107
МОК	0,1 %	467 \pm 67 100	412 \pm 53 88	409 \pm 55 89	417 \pm 55 89	409 \pm 51 88	407 \pm 52 87	393 \pm 51 84
	1 %	437 \pm 36 100	440 \pm 40 101	416 \pm 17 95	407 \pm 18 93	412 \pm 34 94	410 \pm 50 94	397 \pm 55 91
	5 %	513 \pm 51 100	396 \pm 26 77	376 \pm 28 73	382 \pm 28 74	371 \pm 25 72	369 \pm 25* 72	335 \pm 38* 65
V max	0,1 %	2,22 \pm 0,3 100	2,00 \pm 0,4 90	2,10 \pm 6, 2 95	2,10 \pm 5, 2 95	2,00 \pm 9, 2 90	2,00 \pm 4,1 90	1,90 \pm 0,3 86
	1 %	1,90 \pm 0,1 100	1,50 \pm 0,1 79	1,50 \pm 0, 2 79	1,50 \pm 0, 1 79	1,60 \pm 0, 1 84	1,60 \pm 0,1 84	1,30 \pm 0,12 68
	5 %	2,00 \pm 0,2 100	1,50 \pm 0,2 75	1,50 \pm 0, 18 75	1,50 \pm 0, 17 75	1,50 \pm 0, 17 75	1,50 \pm 0,11 75	1,40 \pm 0,8* 70
ОПСС	0,1 %	0,25 \pm 0,04 100	0,25 \pm 0,04 100	0,25 \pm 0,0 4 100	0,25 \pm 0, 04 100	0,32 \pm 0, 09 128	0,33 \pm 0,09 132	0,27 \pm 0,05 * 108
	1 %	0,22 \pm 0,02 100	0,24 \pm 0,04 109	0,23 \pm 0, 03 105	0,22 \pm 0, 03 100	0,21 \pm 0, 02 95	0,21 \pm 0,03 95	0,23 \pm 0,03 105
	5 %	0,19 \pm 0,02 100	0,19 \pm 0,02 100	0,19 \pm 0,01 100	0,19 \pm 0,02 100	0,21 \pm 0, 02 111	0,21 \pm 0,02 111	0,24 \pm 0,03 126
АФЛ	0,1 %	4,6 \pm 1,1 100	3,6 \pm 1,4 78	3,5 \pm 1,2 76	3,6 \pm 1,1 78	3,2 \pm 1,1 70	3,2 \pm 1,0 70	4,0 \pm 1,6 87
	1 %	3,7 \pm 0,2 100	1,8 \pm 0,4* 49	1,9 \pm 0,4 * 51	1,9 \pm 0,4 * 51	2,5 \pm 0,9 68	2,9 \pm 1,0 78	4,1 \pm 2,0 111

	5 %	4,5±0,5 100	2,0±0,4* 44	2,0±0,4* 44	2,0±0,4* 44	2,0±0,4* 44	2,0±0,4* 44	2,3±0,6* 51
АФК	0,1 %	4,1±0,5 100	5,0±0,5 122	5,0±0,5 122	4,9±0,7 120	5,0±0,5 122	4,8±0,6 117	5,0±0,7 122
	1 %	6,0±0,3	7,0±1,5	7,8±1,1	7,9±1,1	8,0±0,6 *	8,0±0,4*	9,2±1,0*
	5 %	5,2±0,5 100	7,0±0,8 136	7,0±1,2 135	8,0±1,4 154	8,0±1,4 154	7,7±1,3 148	7,7±1,5 148

Примечание: *- $p < 0,05$ по сравнению с контролем; ЧСС – частота сердечных сокращений в мин., АДс – систолическое давление, АДд – диастолическое давление, АДп – пульсовое давление, АДср – среднее артериальное давление в мм рт. ст.; УОК – ударный объем крови в мл; МОК – минутный объем крови в мл/мин; V max – максимальная скорость выброса крови левым желудочком сердца в л/мин.; ОПСС – общее периферическое сопротивление сосудов в усл.ед.; АФЛ – амплитуда фотоплетизмограммы задней конечности в мм; АФК – амплитуда фотоплетизмограммы тонкой кишки в мм.

Были также изучены общефармакологические свойства дигидроэргокристина.

Исследование адrenoлитической активности дигидроэргокристина проводили на модели спазма изолированных семенных пузырьков крысы, вызываемого адреналином (10^{-5} г/мл). В опытах использовали установку для изолированных органов фирмы “Ugo Basile” (Италия). Установлено, что дигидроэргокристин в концентрации 10^{-8} г/мл вызывает подавление адреналинового спазма на 25,5%, в концентрациях 10^{-7} , 10^{-6} и 10^{-5} г/мл – на 61,3, 72,8 и 100% соответственно. В тоже время, при изучении влияния дигидроэргокристина на периферические серотониновые рецепторы с использованием изолированных отрезков подвздошной кишки морских свинок (350-500 г, самцы и самки) и установки для изолированных органов фирмы Уго Бэзил (Италия), показано, что препарат в концентрациях 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} г/мл не оказывал существенного влияния на величину серотонинового спазма (серотонин, 10^{-7} г/мл). При концентрации 10^{-5} г/мл наблюдали отчетливую тенденцию к снижению величины спазма, а при концентрации 10^{-4} г/мл снижение амплитуды спазма достигало 90%. Полученные данные свидетельствуют о том, что дигидроэргокристин обладает выраженной α -адrenoлитической активностью и небольшой серотонинолитической активностью, которая проявляется лишь при его больших концентрациях.

При изучении других нейротропных свойств дигидроэргокристина было показано, что препарат (1 и 5 мг/кг) при внутрибрюшинном введении белым нелинейным мышам массой 18-20 г вызывал снижение спонтанной двигательной активности мышцей, в актографе фирмы “Уго Базиле”, на протяжении 90 минут эксперимента, что было особенно выражено после его введения в дозе 5 мг/кг; через 10 и 30 минут двигательная активность животных

снижалась соответственно на 55% и 50% ($p < 0,05$)..

В экспериментах на белых нелинейных мышах массой 16-18 г дигидроэргокристин (1 м 5 мг/кг, внутривенно) несколько (до 18% от контроля) увеличивал продолжительность сна у животных, вызванного введением хлоралгидрата (350 мг/кг, подкожно). Результаты проведенных исследований свидетельствуют о небольшом седативном эффекте дигидроэргокристина.

Исследование противовоспалительных свойств дигидроэргокристина провели на белых беспородных мышах массой 16-17 г. Воспаление воспроизводили введением в апоневроз задних конечностей 0,05 мл 1% раствора формалина или 0,1% раствора гистамина. Величину воспалительного отека определяли по разнице между массой ампутированных отечной и интактной лап животного. Дигидроэргокристин вводили внутривенно однократно в дозах 5, 10 и 50 мг/кг за 1 час до и через час после введения флогистика.

В результате проведенных экспериментов установлено (табл.3.), что дигидроэргокристин в указанных выше дозах имеет тенденцию к небольшому снижению формалинового и гистаминового отеков.

Таблица 3.

Влияние дигидроэргокристина на течение воспалительного отека у мышей

Вариант опыта	Формалиновый отек, мг	Противовоспалительный эффект, %	Гистаминовый отек, мг	Противовоспалительный эффект, %
Контроль	$67,4 \pm 2,29$		$29,6 \pm 3,85$	
Дигидроэргокристин, 5 мг/кг	$63,8 \pm 6,21$	5,4	$25,3 \pm 1,98$	14,6
Дигидроэргокристин, 10 мг/кг	$59,2 \pm 4,67$	12,2	$29,2 \pm 6,13$	1,4
Дигидроэргокристин, 50 мг/кг	$60,1 \pm 4,6$	10,9	$27,6 \pm 4,01$	6,8

Изучение влияния дигидроэргокристина на состояние микроциркуляторного русла проводили на модели адреналинового отека легких у мышей (рис.1). В экспериментах использовали белых беспородных мышей обоего пола массой 26-32 г. Препарат вводили внутривенно 1 раз в сутки в дозах 1; 5 и 10 мкг/кг в течение месяца. В конце эксперимента животным внутривенно вводили адреналин (0,122 мкг/кг) и через 5 минут забивали и вычисляли легочный коэффициент. Контрольным мышам вводили адреналин.

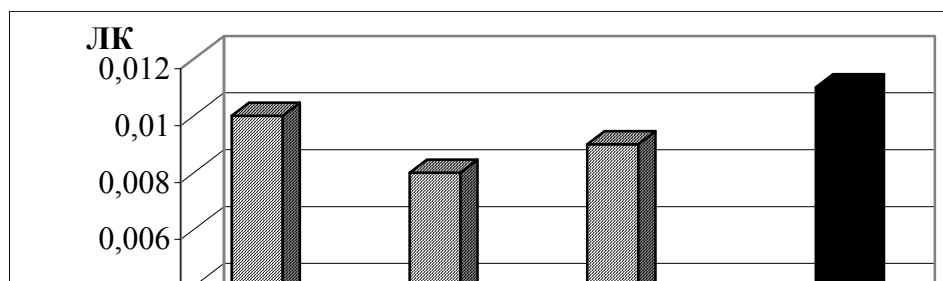


Рис.1. Влияние дигидроэргокристина на величину легочного коэффициента (ЛК) при отеке легких у мышей, вызванным внутривенным введением адреналина

После приема дигидроэргокристина внутривенное введение адреналина приводило к уменьшению легочного коэффициента до 0,0097; 0,0079 и 0,009. В контрольной группе легочный коэффициент составил 0,011. Наибольший эффект наблюдали при дозе препарата 5 мкг/кг – отек легкого снижался на 28-30% по сравнению с контролем. Таким образом, проведенные исследования показали, что дигидроэргокристин уменьшает проницаемость микрососудов на модели адреналинового отека у мышей.

Влияние дигидроэргокристина на некоторые параметры гемокоагуляции изучали при однократном внутривенном введении кроликам в дозах 1 и 5 мг/кг. Кровь для исследования получали из краевой вены уха животного в исходном состоянии и через 5-60 минут после введения препарата. Кровь смешивали с 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. После центрифугирования при 1500 об/мин. цитратную плазму, богатую тромбоцитами, отбирали для дальнейшей работы. Оценку состояния системы гемостаза проводили по общепринятым тестам. Результаты экспериментов обрабатывали разностным методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента. Как видно из представленных результатов (табл. 4), дигидроэргокристин преимущественно снижал свертывающий потенциал крови кроликов, что проявлялось в некотором увеличении времени свертывания в реакции рекальцификации, удлинении времени R и K тромбоэластограммы, тромбинового времени, и уменьшении толерантности плазмы к гепарину. Более выраженно данный эффект наблюдали при дозе препарата 5 мг/кг.

Таблица 4.

Влияние дигидроэргокристина на некоторые параметры гемокоагуляции кроликов при однократном внутривенном введении ($M \pm m$)

Время		ПАРАМЕТРЫ ГЕМОКОАГУЛЯЦИИ		
регистрации	Время	Толерант-	Тромбино-	Тромбоэластография

после введения, мин	рекальцификации, сек	ность к гепарину, сек	вая актив-ность, сек	Время R, сек	Время K, сек	Максимальная амплитуда, мм
ДИГИДРОЭРГОКРИСТИН, 1 мг/кг						
5	+29 \pm 37	+72 \pm 58	+0,3 \pm 0,3	-30 \pm 87	-52 \pm 87	+5,6 \pm 10,8
15	-10 \pm 29	+38 \pm 89	+0,75 \pm 0,6	-64 \pm 43	-75 \pm 24	+7,2 \pm 12,4
30	-22 \pm 25	+139 \pm 37	+1,0 \pm 0,52	+30 \pm 63	+54 \pm 82	+8,6 \pm 12,8
60	-32 \pm 24	+11 \pm 83	+0,5 \pm 0,59	-39 \pm 59	-48 \pm 67	+9,2 \pm 12,4
ДИГИДРОЭРГОКРИСТИН, 5 мг/кг						
5	+37 \pm 23	+85 \pm 145	+0,32 \pm 0,4	-11 \pm 40	+24 \pm 38	-8,4 \pm 5,5
15	+13 \pm 18	+68 \pm 136	+0,35 \pm 0,45	-34 \pm 20	+39 \pm 51	-11,5 \pm 4,0
30	-17 \pm 21	+103 \pm 167	+0,4 \pm 0,29	+11 \pm 52	+18 \pm 52	-3,5 \pm 2,0
60	+77 \pm 40	+68 \pm 114	+0,4 \pm 0,29	+70 \pm 65	+86 \pm 73	-5,0 \pm 2,4

Изучение бронхолитической активности дигидроэргокристина проводили по методу “Регистрация бронхоспазма с помощью пистонрекордера”. Для опытов использовали морских свинок обоего пола массой 300-500 г. Животных наркотизировали уретаном (1,5 г/кг, внутривенно). Спонтанное дыхание выключали диплацином (30 мг/кг, внутривенно). Бронхоспазм вызывали внутривенным введением ацетилхолина в дозе 10 мкг/кг. Для регистрации величины бронхоспазма использовали бронхоспазм-трансдюсер фирмы Ugo Basile, графическую запись осуществляли с помощью самописца той же фирмы. Дигидроэргокристин вводили внутривенно в дозе 1 мг/кг через 18 минут после второго контрольного введения ацетилхолина. Затем ацетилхолин вводили на фоне препарата через 2 минуты и далее каждые 20 минут. Опыты показали, что на фоне введения дигидроэргокристина в дозе 1,0 мг/кг снижение величины ацетилхолинового бронхоспазма через 2, 20, 40, 60, 80, 100 и 120 минут составляла 17,4, 12,2, 7,3, 7,9, 16,1 и 12,2% соответственно, что свидетельствовало о наличии у дигидроэргокристина умеренной бронхолитической активности.

Токсикологическое изучение дигидроэргокристина выявило соответствие полученных показателей имеющимся в литературе данным о токсичности дигидроэргокристина - мезилата.

Заключение.

Дигидроэргокристин мезилат ($C_{35}H_{41}O_5 \cdot CH_3SO_3H$), полученный из эргокристинового штамма спорыньи обладает способностью блокировать прессорный вазомоторный рефлекс и биоэлектрическую активность в симпатических нервах, что указывает на его способность предупреждать развитие констрикторных реакций мозговых сосудов адренергической природы. По данной активности дигидроэргокристин не уступает препарату сравнения – дигидроэрготоксину.

Изучение общепармакологических свойств показало наличие у дигидроэргокристина гипотензивных и брадикардических эффектов выраженной α -адренолитической и слабой серотонинолитической активности, отчетливое ангиопротекторное действие.

Кроме того, у препарата выявлены незначительно выраженные другие фармакологические свойства (снижение спонтанной двигательной активности, седативные, противовоспалительные, бронхолитические и противосвертывающие эффекты).

По совокупности полученных экспериментальных данных, а также принимая во внимание тот факт, что находившееся на изучении вещество является аналогом по фармакологическим свойствам, токсичности и химическому строению зарубежным дигидроэргокристин-содержащим препаратам, Минздрав России (Приказ МЗ РФ № 382 от 25.10.99) разрешил применение дигидроэргокристина в широкой медицинской практике в виде таблеток для перорального применения по 0,00025 г в качестве альфа-адреноблокатора для лечения нарушений мозгового кровообращения, сопровождающихся артериальной гипертензией.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Ergot, Alkaloids and Related Compounds (1978) Ed. by Berde B., Schild H.O. Springer-Verlag. V.49.
2. Mosa B., Vtei Galena. (1980) Information on dihydroergotoxine SPOFA (substance and preparations).
3. Markwardt F. et al (1977)/Trombosis Res. №10., P.783-789.
4. Martindale. (1982) The Extra Pharmacopoeia.-12th ed. London., The Pharmaceutical Press.

Kolkhir V.K., Omelnitskiy P.P., Sakovitch G.S., Glazova N.G., Alibecov S.D., Shkarenkov A.A., Sokolskaya T.A., Vichkanova S.A., Zvonkova E.N., Pineev C.A., Kuznecov U.B., Krutikova N.M.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

DIHYDROERGOCRISTIN - α -ADRENOLITIC REMEDY FOR THE TREATMENT OF BLOOD-CIRCULATION DISTURBANCES OF THE BRAIN.

As a result of many-years selectional investigations in VILAR was a creation of a new ergocristin-producing stamm of spur (ergot). On the basis of ergocristin dihydroergocristin (DE) have been obtained. The pharmacological study allowed identifying it with DE, what is used in the medicinal practice. The new drug on the DE-basis was recommended for the medicinal use.

КОЛХИР В.К., МАЙНСКОВ А.В., САКОВИЧ Г.С., ЛЕСКОВА Т.Е., БАГИНСКАЯ А.И.,
МИНЕЕВА М.Ф., ОМЕЛЬНИЦКИЙ П.П., ВИЧКАНОВА С.А.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КАСМИНА – НОВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО АНТИТРОМБОТИЧЕСКОГО СБОРА

Повышение свертывающего потенциала крови – один из ведущих факторов патогенеза наиболее распространенных сердечно-сосудистых заболеваний (атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, хроническая венозная недостаточность и др.) и одна из основных причин таких тяжелых осложнений этих заболеваний как тромбозы и тромбоэмболии [1]. Поэтому антикоагулянты входят в арсенал патогенетических средств лечения этих заболеваний [2, 3]. Однако применение современных сильнодействующих синтетических антикоагулянтов требует большой осторожности, прежде всего, в связи с возможными кровотечениями. Как правило, их применяют в острых случаях в условиях постоянного врачебного контроля. Они противопоказаны при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки и ряде других заболеваний. Антикоагулянтных средств, которые могут использоваться более широко, в том числе и с целью профилактики тромбообразования, очень немного. К ним относятся некоторые лекарственные растения: каштан конский, левзея сафлоровидная, патриния средняя, гинкго билоба, чеснок и некоторые другие [4].

Разработанный в институте лекарственных растительный сбор “Касмин”, обладает мягким антикоагулянтным действием и целым рядом других фармакологических свойств, обеспечивающих его многостороннее положительное влияние при сердечно-сосудистых заболеваниях.

В состав касмина входят пять видов измельченного официального фармакопейного лекарственного растительного сырья: каштан конский, оказывающий, наряду с противосвертывающим действием, вентонические и противовоспалительные эффекты; корни солодки, обладающие антиагрегационными, противовоспалительными, противоязвенными, гиполипидемическими и антиаллергическими свойствами; мята перечная или Melissa, проявляющие успокаивающую и анальгезирующую активности; плоды боярышника, оказывающие мягкое кардиотоническое и сосудорасширяющее действие; плоды шиповника, обладающие общеукрепляющими (источник витаминов С и Р и провитамина А), гиполипидемическими и желчегонными свойствами [5, 6, 7]. Подбор компонентов и их количественных соотношений в сборе проводили не только с учетом их фармакологической активности, но и с точки зрения технологичности производства и соответствующих потребительских свойств (вкус, цвет, запах).

В условиях экспериментального изучения проведен подробный анализ действия сбора на показатели свертывающей системы крови, исследовали его влияние на функциональное состояние основных систем и органов, на процессы воспаления и регенерации. Касмин изу-

чали в виде водного настоя, приготовленного по следующей прописи: содержимое 4 г сбора (2 чайные ложки сбора или содержимое 1 фильтр-пакета, или пакета из ламинированной бумаги) заливали кипящей водой (1 стакан), накрывали крышкой и настаивали 30 минут.

Влияние касмина на гемокоагуляцию изучали в условиях опытов *in vitro* (1-50 мкл/мл крови), при однократных внутривенном (100 мг/кг) и пероральном (500 мг/кг) введениях кроликам, массой 2,0-3,5 кг, а также при многократном введении кроликам (200 мг/кг) на фоне применения непрямого антикоагулянта фенилина (30 мг/кг). В экспериментах *in vivo* кровь для анализа отбирали у животных в исходном состоянии и через 5-60 мин после внутривенного, или через 15-120 мин после внутрижелудочного введения касмина. При изучении влияния касмина на эффекты фенилина при их совместном применении настоек сбора вводили кроликам внутрижелудочно в течение 6-ти дней, на 7-ой день животные получали касмин и фенилин одновременно; контрольной группе животных однократно внутрижелудочно вводили фенилин. Кровь для исследования отбирали в исходном состоянии, а также через 24 и 48 часов после введения фенилина. Оценку состояния системы гемостаза проводили по общепринятым тестам [8]. Определяли время рекальцификации плазмы (Тр), толерантность плазмы крови к гепарину (ТПГ), тромбиновое время (Та), тромбоэластографические показатели (ТЭГ, на приборе "Тромб-2"): время реакции (R), время образования сгустка (К), максимальная амплитуда тромбоэластограммы (Ма). Кроме того, в экспериментах *in vitro* исследовали влияние касмина на АДФ - индуцированную агрегацию тромбоцитов кроликов с использованием прибора "Агрегометр". Результаты экспериментов обрабатывали разностным методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента [9].

Эксперименты в условиях *in vitro* позволили обнаружить прямое действие касмина на факторы гемокоагуляции и агрегацию тромбоцитов. Уже при концентрации касмина 1 мкл/мл крови наблюдалось заметное замедление процесса свертывания крови, характеризующееся удлинением времени R на 25 % и времени К на 36 % по сравнению с контролем (табл. 1). Эффект возрастал с увеличением концентрации касмина в крови: при 10 мкл/мл крови время R и время К достоверно увеличивались на 46 % и 59 % соответственно, по сравнению с контролем. Касмин в изученных концентрациях оказывал и умеренное антиагрегационное действие, что характеризовалось дозо-зависимым уменьшением степени АДФ - индуцированной агрегации тромбоцитов кроликов на 3.4-37.2 %% по сравнению с контролем (табл. 1).

Таблица 1.

Влияние касмина на гемокоагуляцию и агрегацию тромбоцитов
в условиях опытов *in vitro*

Концентрация, касмина мкл/мл крови	Показатели тромбозаграфии		Степень агрегации тромбоцитов, %
	Время реакции (R), сек	Время образования сгустка (K), сек	
1	+57±38	+30±17	-
5	+80±29*	+19±9	-3,4±1.9
10	+102±34*	+47±17*	-17,7±3.4**
25	-	-	-30,7±4.8**
50	+128±99	+72±40	-37,2±7.5**

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ по сравнению с исходным уровнем

Эксперименты на животных подтвердили наличие антикоагулянтного эффекта у касмина. После однократного внутривенного введения касмина кроликам в дозе 100 мг/кг уже через 5 мин наблюдалось увеличение на 50% времени свертывания в реакции рекальцификации, времени К ТЭГ - на 74 %; на 38% уменьшалась толерантность к гепарину по сравнению с исходным уровнем, почти в 2 раза удлинялось время R ТЭГ. Выраженное, и достоверное по большинству определяемых параметров, снижение свертывающего потенциала крови кроликов наблюдали и через 60 минут после введения касмина (табл.2).

Таблица 2.

Влияние касмина на гемокоагуляцию у кроликов при
внутривенном введении в дозе 100 мг/кг

Время после введения, мин	ПАРАМЕТРЫ ГЕМОКОАГУЛЯЦИИ					
	Тр,	ТПГ,	Та,	ТРОМБОЭЛАСТОГРАФИЯ		
	сек	Сек	Сек	R, сек	K, сек	Ма, мм
5	+45±7,5**	+129±27*	+0,95±0,48	+146±63	+168±22*	-17,0±3,6*
15	+33±5,7**	+56±23	+1,2±0,6	+140±61	+146±50*	-4,0±2,6
30	+49±6,6**	+116±62	+1,6±0,55	+114±31*	+124±42*	-8,5±4,3
60	+58±14,5*	+131±32*	+1,1±0,36*	+128±88	+166±91	-7,8±3,6

Примечание: Тр - время рекальцификации плазмы, ТПГ - толерантность плазмы к гепарину, Та - тромбиновое время, R - время реакции, K - время образования сгустка, Ма - максимальная амплитуда тромбоэластограммы;

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ по сравнению с исходным уровнем.

Антикоагулянтный эффект касмина отчетливо проявлялся после его однократного внутрижелудочного введения в дозе 500 мг/кг. Через 30 мин после его введения на 25 % увеличивалось время свертывания плазмы крови в реакции рекальцификации ($p < 0.01$), в 1,8 раза возрастало время образования сгустка тромбоэластограммы, заметно уменьшалась толерантность плазмы к гепарину. Противосвертывающий эффект касмина наблюдался и через два часа после его введения (табл. 3).

Таблица 3.

Влияние касмина на гемокоагуляцию у кроликов
при внутривенном введении в дозе 500 мг/кг

Время после введения, мин	ПАРАМЕТРЫ ГЕМОКОАГУЛЯЦИИ					
	Тр,	ТПГ,	Та,	ТРОМБОЭЛАСТОГРАФИЯ		
	сек	сек	сек	Р, сек	К, сек	Ма, мм
15	+4,6±2.6	+7±42	+0,5±0.2	+14±10	+20±45	-6,6±2.4
30	+40,6±0.6**	+88±41	+0,36±0.2	+62±42	+98±33*	-2,0±1.1
60	+49,3±8.1**	+32±43	+0,23±0.4	+100±72	+172±83	-2,6±1.3
120	+51,0±35.2	+93±86	+0,21±0.4	+88±32*	+126±45*	-4,0±3.0

Примечание: Тр - время рекальцификации плазмы, ТПГ - толерантность плазмы к гепарину, Та - тромбиновое время, Р - время реакции, К - время образования сгустка, Ма - максимальная амплитуда тромбоэластограммы;

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ по сравнению с исходным уровнем

Известно, что фенилин при приеме внутрь вызывает гипопротромбинемию, связанную с нарушением процесса образования протромбина в печени. Максимум противосвертывающего эффекта наблюдается через 24-30 часов после приема антикоагулянта. В наших экспериментах (табл.4) максимальный эффект фенилина наблюдался через 24 часа после его введения: в 2,1 раза увеличивалось время свертывания в реакции рекальцификации, на 73% уменьшалась толерантность плазмы к гепарину и на 63% увеличивалось протромбиновое время по сравнению с показателями интактной группы. Профилактическое (6-ти кратное) введение касмина усиливало антикоагулянтный эффект фенилина: на 8% увеличивалось протромбиновое время, на 17% - время рекальцификации, на 23,7% уменьшалась толерантность к гепарину, по сравнению с группой животных, получавших один фенилин. Через 2 суток время рекальцификации и толерантность к гепарину в обеих опытных группах приближалась к норме, а протромбиновое время еще было достоверно увеличено по сравнению с интактной группой животных.

Таблица 4.

Влияние касмина на гемокоагуляцию на фоне применения фенилина ($M \pm m$)

Время взятия крови после введения, час	Параметры гемокоагуляции		
	Время рекальцификации, сек	Толерантность плазмы к гепарину, сек	Протромбиновое время, сек
1-я группа: фенилин (30 мг/кг)			
Исходное	200 ± 14	633 ± 85	12,5 ± 0,4
24	521 ± 50*	1308 ± 153*	20,5 ± 0,6*
48	329 ± 51	668 ± 105	14,5 ± 0,4*
2-я группа: касмин (200 мг/кг) + фенилин (30 мг/кг)			
Исходное	189 ± 16	624 ± 62	12,5 ± 0,5

24	608 ± 81*	1618 ± 90*	21,0 ± 0,9*
48	313 ± 70	612 ± 53	13,9 ± 0,7*
3-я группа: интактная			
Исходное	243 ± 38	722 ± 34	12,6 ± 0,4
24	242 ± 40	756 ± 98	12,6 ± 0,1
48	278 ± 20	700 ± 117	10,1 ± 0,4

* - $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой

Изучение гиполипидемической активности касмина проводили на нормолипидемических и гиперлипидемических белых беспородных крысах обоего пола массой 150-180 г. В первом случае касмин в дозах 50 и 100 мг/кг вводили животным внутрижелудочно в течение 4-х дней. Контрольные животные получали адекватное количество воды. В конце эксперимента животных забивали декапитацией и отбирали кровь, для последующего определения уровня общего холестерина, триглицеридов и бета-липопротеидов. Определение биохимических показателей сыворотки крови проводили с использованием спектрофотометра МРС-2000. Модель гиперлипидемии у крыс вызывали однократным внутрибрюшинным введением тритона WR-1399 (неионовый детергент) в дозе 250 мг/кг. Касмин вводили внутрижелудочно в дозах 50 и 100 мг/кг. Контрольные животные получали адекватное количество воды. Содержание липидов измеряли в сыворотке крови крыс через 18 часов после введения тритона. Установлено (табл.5), что в дозах 50 и 100 мг/кг касмин не оказывал существенного влияния на уровень общего холестерина сыворотки крови у нормо- и гиперлипидемических крыс по сравнению с контролем. В тоже время, в условиях обеих моделей, касмин способствовал существенному снижению уровня бета-липопротеидов (на 26 и 44 %% соответственно дозе у нормолипидемических крыс, на 13 и 58 %% - у гиперлипидемических крыс) и триглицеридов (на 36 % при дозе 50 мг/кг у нормолипидемических крыс и на 21.5 и 20 %% ($p < 0.05$) у гиперлипидемических крыс).

Таблица 5.

Влияние касмина на липидный обмена у нормо- и гиперлипидемических крыс

Группа, доза касмина, мг/кг	ПОКАЗАТЕЛИ		
	Холестерин, мг%	Бета-липопротеиды, мг%	Триглицериды, ммоль/л
Нормолипидемические крысы			
Контроль	23,8 ± 6,5	26,2 ± 8,2	0,92 ± 0,54
Касмин, 50	23,2 ± 5,9	19,3 ± 13,5	0,59 ± 0,1
Касмин, 100	21,3 ± 4,6	14,7 ± 6,6	0,93 ± 0,2
Гиперлипидемические крысы			
Интактная	22,7 ± 5,4	26,1 ± 7,4	0,9 ± 0,51

Контроль	$119,0 \pm 41,7$	$36,8 \pm 15,8$	$22,9 \pm 0,25$
Касмин, 50	$113,5 \pm 43,0$	$31,9 \pm 15,0$	$17,9 \pm 0,97$
Касмин, 100	$116,0 \pm 21,9$	$15,6 \pm 12,6$	$18,2 \pm 0,76$

Изучение влияния касмина на процессы регенерации проведено с использованием индометациновой [10] и этаноловой [11] моделей экспериментальных язв желудка у крыс. О гастропротекторных свойствах касмина судили по комплексу показателей: гибель крыс в опытных и контрольных группах, процент крыс с язвами желудка, средней частоте возникновения язвенных дефектов, средней площади этих дефектов. Исходя из данных параметров, вычисляли индекс Паулса [12] - интегральный показатель противоязвенного действия. Индометациновые язвы желудка были воспроизведены у 12 белых беспородных крыс-самцов, массой 200-240 г. Животные были разделены на 2 группы: контрольную и опытную. До начала эксперимента крысы в течение 36 часов голодали со свободным доступом к воде. Касмин в дозе 1 г/кг вводили животным опытной группы дважды с часовым промежутком. Контрольная группа получала в том же объеме воду. Через час после последнего введения препарата животным внутрижелудочно вводили индометацин в дозе 30 мг/кг. Через 17 часов крыс забивали декапитацией. Брюшную полость вскрывали, извлекали желудок, разрезали его по малой кривизне и подсчитывали число и площадь язвенных дефектов. Этаноловые поражения желудка были воспроизведены у 19 белых беспородных крыс-самок массой 180-220 г. Накануне эксперимента животные были лишены пищи в течение 36 часов (вода без ограничения). В день проведения эксперимента касмин в дозах 0.5 и 1.0 г/кг вводили крысам внутрижелудочно в объеме 1.0 мл/100 г массы животного дважды с часовым промежутком и третий раз - за 30 минут до введения 80 % этанола в объеме 1 мл/крысу. Еще через час крыс забивали декапитацией, извлекали желудки и проводили макроскопическую ревизию слизистой.

В случае индометациновой модели язв, введение касмина несколько уменьшало (на 12 %) частоту возникновения язвенных дефектов слизистой желудка крыс по сравнению с контролем, но значительно (на 69 %) уменьшало среднюю площадь язвенных поражений и в 32 раза - индекс Паулса. При этом терапевтический эффект составил 3,2 по отношению к контролю (табл. 6). На этаноловой модели язв касмин оказывал отчетливое дозозависимое гастропротекторное действие на слизистую желудка крыс, о чем свидетельствует уменьшение процента больных крыс, средней частоты возникновения и площади язвенных дефектов, индекса Паулса.

Таблица 6.

Влияние касмина на экспериментальные язвы желудка у крыс

Вариант Опыта	Крысы с язвами, %	Степень изъязвления	Индекс Паулса	Терапевтический эффект	Средняя площадь язвенных поражений	Индекс Паулса	Терапевтический эффект
Модель индометациновых язв желудка у крыс							
Контроль	100	14,5 \pm 1,9 100%	14,5	--	34,8 \pm 6,1 100%	34,8	--
Касмин, 1 г/кг	100	12,8 \pm 1,5 -12%	12,8	1,1	10,9 \pm 3,7 -69%	10,9	3,2
Модель этаноловых язв желудка у крыс							
Контроль	100	5,8 \pm 1,3 100%	5,8	--	51,7 \pm 15,8 100%	51,7	--
Касмин, 0,5 г/кг	100	3,4 \pm 0,5 -41%	3,4	1,7	19,1 \pm 5,3 -63%	19,1	2,7
Касмин, 1 г/кг	83,3	2,5 \pm 0,9 -57%	2,1	2,8	13,7 \pm 5,0 -74%	11,4	4,5

Седативные эффекты касмина изучали на модели хлоралгидратного сна у мышей.

Касмин белым беспородным мышам массой 18-20 г вводили в дозах 50-1000 мг/кг внутривентрикулярно, а контрольным животным вводили по 0.2 мл дистиллированной воды, за 20 мин до подкожного введения хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг. Регистрировали латентные периоды сна и длительность сна по рефлексу переворачивания из бокового положения. Введение касмина сокращало латентные периоды сна на 13,5-43,3% в зависимости от дозы, длительность сна увеличивалась на 6,1-41,5%. Длительность сна опытных животных заметно увеличивалась. При возрастании дозы препарата эффект увеличения продолжительности сна был более выражен (табл. 7).

Таблица 7

Влияние касмина на хлоралгидратный сон у мышей (n=10)

Группа, доза касмина, мг/кг	Латентный период		Длительность сна	
	Минуты	% эффекта	Минуты	% эффекта
I серия экспериментов				
Контроль	9,7		60,2	
Касмин, 50	6,4	-34,1	64,8	+7,6
Касмин, 200	5,5	-43,3	63,9	+6,1
II серия экспериментов				
Контроль	5,2		105,5	
Касмин, 300	5,5	-13,5	135,7	+28,6*
Касмин, 500	3,7	-27,9	149,3	+41,5*

Результаты опытов свидетельствуют о том, что касмин в больших дозах потенцирует снотворный эффект хлоралгидрата, т.е. оказывает умеренное седативное действие.

Для оценки анальгетической активности касмина была выбрана модель "уксуснокислых корчей" у мышей. Данная модель воспроизводится путем внутрибрюшинного введения животным химического агента - 0.75 % раствора уксусной кислоты - в объеме 0,25 мл/животное. В экспериментах использовали белых беспородных мышей-самцов массой 18-20 г. Касмин вводили внутривентрикулярно однократно в дозе 100 мг/кг за 30 мин до введения уксусной кислоты. Контрольные животные получали воду. Регистрацию количества "корчей" (боковая реакция) у животных осуществляли визуально в течение 10 мин после воспроизведения модели. Как показали результаты исследования, касмин обладает умеренной анальгетической активностью, что проявлялось в уменьшении числа корчей на 25.6 % у опытных животных по сравнению с контрольными.

Изучение диуретической активности касмина проводили по общепринятому методу [13] на белых беспородных крысах обоего пола массой 170-200 г. Животные находились на постоянном пищевом и водно-солевом режиме. Сбор мочи осуществляли в течение 5-ти часов в чешских обменных клетках на фоне водной нагрузки в объеме 5 мл/100 г. Установлено, что под влиянием касмина интенсивность мочеиспускания животных достоверно увеличивалась более чем в 2 раза, что свидетельствует о выраженной диуретической активности препарата.

Изучение влияния касмина на артериальное давление проводили в экспериментах на белых беспородных крысах обоего пола массой 200-220 г с использованием полиграфа RM-6000 фирмы "Nichon Kohden". Касмин вводили животным внутривентрикулярно в дозе 100 мг/кг. Систолическое и диастолическое артериальное давление у крыс регистрировали в исходном состоянии и в течение 90 минут после введения касмина. После введения касмина наблюдалась слабая тенденция к снижению систолического и диастолического давления, различия с исходным показателем составляли 2-12%. Учитывая эти результаты, а также то, что у контрольных животных в некоторых случаях наблюдалось небольшое повышение показателей артериального давления, можно сделать вывод о том, что касмин оказывает незначительное гипотензивное действие.

Острую токсичность касмина исследовали по методу Литчфилда-Уилкоксона на белых беспородных мышях массой 18-20 г при двух способах введения препарата в виде настоя: внутрибрюшинном и внутривентрикулярном.

При внутривентрикулярном введении касмин, в дозах 2.5-10 г/кг, не вызывал гибели животных. Установлены следующие параметры острой токсичности касмина при его внутрибрюшинном введении: ЛД₁₆ - 870 мг/кг, ЛД₅₀ - 1800 (1538-2106) мг/кг и ЛД₈₄ - 3810 мг/кг, в пересчете на сухое сырье. Полученные данные свидетельствуют о том, что касмин по пока-

зателям острой токсичности для мышей может быть отнесен к категории практически нетоксичных веществ.

Заключение.

Результаты проведенных экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что касмин обладает значительной противосвертывающей и антиагрегационной активностью. Представляют интерес выявленные у касмина гиполипидемические, гастропротективные, гипотензивные, седативные, диуретические и анальгетические свойства. Касмин является нетоксичным лечебным средством, противопоказаниями для его применения являются тяжелые поражения печени и почек, а также геморрагические диатезы и другие заболевания, сопровождающиеся пониженной свертываемостью крови.

Приказом МЗ РФ № 399 от 05.12.96 КАСМИН разрешен к применению в медицинской практике в качестве антитромботического средства для лечения больных с начальными стадиями хронической венозной недостаточности и лимфостаза (синдром "усталых ног"), а также для профилактики атеросклероза.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Moser K.M. (1990) Am. Rev. Respir. Dis., V.141, P.235-249
2. Beretz A., J.-P.Cazenave (1991) Planta Med. V. 57(1), P. 68-72
3. Engelberg H. (1991) Semin. Thromb. Hemost. V. 17, P. 5-8
4. Колхир В.К., Сакович Г.С., Зюзин В.А. (1995) Тезисы докладов 2-го Росс.Нац.Конгр. Человек и лекарство. Москва. С. 236.
5. Колхир В.К. (1983) Исследование влияния некоторых тритерпеновых гликозидов на свертывающую систему крови. Дисс. к.м.н. Москва. 176 с.
6. Майнсков А.В., Киселева Т.Л., Колхир В.К. и др. (1999) Лекарственные средства растительного происхождения в терапии хронической венозной недостаточности. Москва. 37с.
7. Blesken R. (1992). Fortschritte der Medizin. V.110. P.290-292.
8. Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д. и др. (1980). Лабораторные методы исследования системы гемостаза. Москва, "Медицина"
9. Беленький М.Л. (1963). Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Ленинград.
10. Bhargava K.P., Gupta M.B. et al(1973). Eur. J. Pharmacol. V.22. P.191-196
11. Robert A., Nejamis J.E., Lancaster C. et al. (1983) Am.J.Physiol. Vol.245.-P.113-121.
12. Pauls F., Wick A.N. et al. (1947) Gastroenterol. V.8. P.774-782.
13. Берхин Е.Б. (1967) В кн.: Мочегонные средства, М.Медицина,

Kolkhir V.K., Miynckov A.V., Sakovich G.S., Leskova T.E., Baginskaya A.I., Minneeva M.F., Omelnitskiy P.P., Vichkanova S.A.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF A NEW ANTI-THROMBOTIC PHYTOPREPARATION "KASMIN"

Kasmin includes five species of crushed officinal medicinal vegetable raw materials: *Aesculus hippocastanum*-seeds, *Rosa*-fruits, *Crataegus*-fruits, *Glycyrrhiza glabra*-roots, *Mentha piperita* or *Melissa officinalis*-leaves. The experimental study established substantial anti-coagulant and anti-aggregational activity, some other useful properties of the preparation. KASMIN was permitted for the use in the medicinal practice for the treatment of initial stages of chronic venous insufficiency, lymphostasis and for prophylaxis of atherosclerosis.

БАГИНСКАЯ А.И., КОЛХИР В.К., ШКАРЕНКОВ А.А., ГОРОДНЮК Т.Н.,
ГЛАЗОВА Н.Г., ЛЕСКОВА Т.Е., КРЕПКОВА Л.В., БОРТНИКОВА В.В., ВИЧКАНОВА С.А.,
КРУТИКОВА Н.М.

ВИЛАР, Москва, Россия

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ

В комплексном лечении заболеваний гепатобилиарной системы применяются разнообразные медикаментозные средства, среди которых важное место занимают лекарственные средства флавоноидной природы растительного происхождения, оказывающие гепатозащитное действие и применяющиеся при острых гепатитах, хронических заболеваниях и циррозе печени. Превалируют в этой группе препараты, выделенные из плодов расторопши пятнистой: силимарин (ФРГ), легалон (Югославия), карсил (Болгария), силибор (Украина). Исследования показали, что антигепатотоксическое действие этих препаратов обусловлено флаволигнанами, в основном, тремя изомерами – силибином, силидианином и силихристином. Все три изомера характеризуются чрезвычайно похожими ультрафиолетовыми и инфракрасными спектрами, точками плавления и оптическими свойствами вращения. Все эти три изомера объединяют в одну группу под названием силимарин [3]. В зависимости от популяции расторопши пятнистой, выращенной в различных регионах, соотношение этих изомеров может несколько колебаться. Кроме того, на их соотношение может оказывать влияние и технология освобождения семян расторопши от жирного масла, содержание которого достигает 30% и его выделение представляет существенные трудности. Отсюда в разных странах практически один и тот же комплекс получил разные названия. Так, например силибор – суммарный препарат, состоит из суммы флаволигнанов. Основными компонентами суммы являются силидианин, силибин и их дегидропроизводные. Карсил (легалон) представляет собой препа-

рат, основными компонентами являются силибин и силидианин; в заметных количествах присутствует силихристин.

В ВИЛАРе разработан препарат, основанный на оригинальной технологической схеме удаления жирного масла из плодов расторопши путем прессования.

Измельченным и обезжиренным в процессе прессования плодам расторопши пятнистой, получаемым в виде сухого экстракта, дано название “Плоды расторопши обезжиренные (жом)”. Новая технология позволяет обеспечить извлечение биологически активных веществ в возможно более полном объеме при сохранении их природной комбинации. Химическое сравнительное изучение жома плодов расторопши и карсила проведенное с использованием хроматографического анализа и УФ-спектра, показало, что сухой экстракт расторопши по составу является аналогом карсила; в дальнейшем он получил название “Силимар”.

Многообразие этиологических агентов, особенности патогенеза, клиническое течение повреждений органов гепатобилиарной системы диктует создание комплексных фитопрепаратов с учетом полифункциональной активности печени и связанных с нею других расстройств в организме. В свете вышесказанного разработан комплексный препарат “Сибектан”, куда вошли жом плодов расторопши “Силимар”, сухой экстракт цветков пижмы “Танацехол”, экстракт календулы и листа березы. “Силимар” оказывает антигепатотоксическое действие; в фармакологических эффектах “Танацехола” преобладает влияние на желчевыделительную функцию печени в сочетании с антигепатотоксическими, противовоспалительными и усиливающими процессы регенерации свойствами. Экстракты календулы и листа березы потенцируют противовоспалительный, антиульцерогенный, желчегонный эффекты “Сибектана”.

Третий оригинальный препарат – “Камадол” разработан на основе масла расторопши пятнистой, экстрактов травы календулы и ромашки. Масло из семян расторопши, которое в качестве отхода остается в процессе прессования плодов и последующего обезжиривания жмыха, обладает ранозаживляющим действием [7]. Масло содержит фосфолипиды, белки, жирные кислоты: пальмитиновую, министиновую, арахидоновую и др. С целью усиления ранозаживляющих и противовоспалительных свойств масла расторопши в комплексный препарат введены экстракты из травы календулы и ромашки, при этом масло расторопши играет двойную роль: как экстрагент для растений, входящих в его состав – ромашки аптечной и календулы лекарственной, и как биологически активный компонент комплексной композиции. Ромашка аптечная и календула лекарственная включены в “Камадол” как растения с хорошо известными противовоспалительными свойствами. Интересно отметить, что данная

активность обусловлена разными группами химических веществ, содержащихся в растениях, в частности, сесквитерпеновыми лактонами и тритерпеновыми гликозидами.

Приводим результаты изучения наиболее важных параметров, характеризующих специфическую активность указанных препаратов. Наиболее частным признаком поражения печени является цитолиз [2]. Цитолитический синдром проявляется биохимически – изменениями активности ферментных систем, концентраций ряда веществ в сыворотке крови и тканях органов. Другим важным синдромом, который также часто наблюдается при повреждениях гепатобилиарной системы, является холестаз, обусловленный нарушением продукции и оттока желчи [4].

Экспериментальный гепатит у белых крыс вызывали подкожным введением 50% масляного раствора четыреххлористого углерода, однократно или в течение 3 дней подряд [1]. Тетрациклиновый гепатит вызывали введением крысам тетрациклина в желудок в дозе 0,5 г/кг, один раз в сутки, в течение 5 дней [11]. Для определения динамики изменений биохимических показателей у животных на 3, 7, 14 и 21-й дни опыта брали на исследование кровь из хвостовой вены. В сыворотке крови определяли: активность аланинаминотрансферазы (АЛАТ), аспартатаминотрансферазы (АСАТ), гамма-глутамилтрансферазы (γ -ГТР), концентрацию общего холестерина, триглицеридов, билирубина и др. Определение указанных параметров производили на финском биохимическом анализаторе FP-g с использованием наборов реактивов фирмы “БЕРИНГЕР”. Влияние препаратов на интенсивность желчеотделения изучали в острых опытах на крысах по методу Скакун Н.П. и Олейник А.Н. [5]. Перед введением гепатотропных повреждающих агентов животные в течение 3-5 дней получали силимар или сибектан в изучаемых дозах, а в случае хронического ведения эксперимента препараты продолжали вводить в течение 21 дня. Препаратом сравнения служил карсил.

Силимар. Фармакотерапевтическую эффективность силимара оценивали при внутрижелудочном введении его в дозах 50 и 100 мг/кг. Результаты исследований, проведенных в условиях острого и хронического развития патологии печени показали, что силимар тормозит процессы цитолиза, снижая активность индикаторных ферментов – аминотрансфераз (АЛАТ и АСАТ), препятствует развитию холестаза, уменьшая активность γ -ГТР и щелочной фосфатазы. Силимар обладает антиоксидантной активностью, о чем свидетельствуют эксперименты, проведенные в лабораторных условиях в опытах *in vitro*. Силимар подавляет индуцированное ПОЛ, что проявлялось в уменьшении количества МДА на 15-41%, по сравнению с контролем, причем эффект препарата возрастал с увеличением его концентрации в гомогенате печени. Препарат также активизирует обезвреживающе-выделительную функцию печени, укорачивая на 41,5% и 38% длительность гексеналового сна соответственно для си-

лимара и препарата сравнения – карсила. Силимар увеличивает интенсивность желчеотделения у крыс (табл. 1).

Таблица 1

Влияние силимара на интенсивность желчеотделения у крыс

Препарат, доза (мг/кг)	n	Исходный фон (мл/100 г)	После введения через, часы		
			1	2	3
Силимар, 50	10	0,19±0,01 100%	0,29±0,02 +31,6%	0,24±0,03 +26,3%	0,18±0,01
Карсил, 50	10	0,16±0,15 100%	0,22±0,01 +37,5%	0,19±0,02 +18,8%	0,16±0,04

Так, в дозе 50 мг/кг силимар увеличивает выделение желчи на 31,6% и 26,3%, соответственно, за 1 и 2-й часы сбора желчи. Карсил увеличивает выделение желчи отчетливо в 1-й час после введения (37,5%). Однако ко 2-му часу выделение желчи уменьшается и составляет только 18% от исходного фона. В хроническом эксперименте введение силимара в дозах 50 и 100 мг/кг в течение 21 дня оказывало отчетливое протекторное действие. Так, на 7-й день ведения эксперимента наиболее выраженное торможение нарастания активности характерно для АЛАТ и составило 43,4 и 54,8% для двух доз соответственно. На 14-й день это замедление составило 60 и 66% от исходного фона. Та же направленность, но несколько меньшая наблюдалась и для АСАТ (табл. 2).

Исследования показали, что введение животным силимара вызывает отчетливое (на 33-60%) дозозависимое снижение активности γ -ГТФ в сыворотке крови. Что касается щелочной фосфатазы, то наиболее выраженные изменения ее активности отмечали на 7-й день эксперимента. Таким образом, гепатопротекторное действие препарата проявляется как при остром, так и при хроническом гепатите у крыс.

Таблица 2

Влияние силимара на активность аминотрансфераз и щелочной фосфатазы сыворотки крови у крыс при однократном введении тетрафлорметана

Группы животных, до- за (мг/кг)	Содержание ферментов, %		
	АЛАТ	АСАТ	Щелочная фосфатаза
Контроль	100	100	100
Силимар, 100	60*	68,1*	78,1*
Карсил, 100	65,8*	80,1*	76,2*

* Достоверно при $P < 0,01-0,001$

Изучение общетоксического действия силимара на организм животных проводилось в остром, подостром и хроническом экспериментах. При исследовании “острой” токсичности силимара на белых беспородных мышах и крысах обоего пола при внутрибрюшинном способе введения среднесмертельные дозы составляли 790-930 мг/кг. Признаки острой интоксикации проявлялись у мышей и крыс в виде нарушения координации движений, тремора конечностей, клонических судорог. Гибель животных отмечалась на протяжении двух суток после введения препарата. При однократном введении силимара в желудок мышам и крысам в максимально возможных дозах (до 10000 мг/кг) наблюдали непродолжительный (до 1 часа) период интоксикации, который проявлялся у животных в виде беспокойства, вставания на задние лапы, груминга, в некоторых случаях тремора конечностей. Гибели животных не отмечено. При внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении силимара не выявлено различий в реакции мышей и крыс на препарат, связанных с видом и полом животных. Таким образом, по параметрам токсичности при однократном внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении силимара мышам и крысам обоего пола препарат следует отнести к классу малотоксичных веществ по классификации принятой в РФ и ВОЗ. В подостром эксперименте на белых беспородных крысах силимар вводили животным внутрижелудочно в течение месяца в дозах 20, 200 и 2000 мг/кг. Максимальная из примененных доз в 400 раз превышала суточную терапевтическую, рекомендованную для человека. В условиях проведенного эксперимента не выявлено токсического действия силимара на морфологические и биохимические показатели периферической крови, функциональное состояние сердечно-сосудистой и центральной нервной систем, печени и почек и подтверждено результатами патогистологического исследования внутренних органов экспериментальных животных. При исследовании хронической токсичности силимара в 3-месячном эксперименте на собаках, ежедневно получавших препарат в 20-кратной терапевтической дозе – 100 мг/кг, ни по одному из примененных тестов также не было выявлено каких-либо изменений в функциональной деятельности внутренних органов и систем организма животных.

При изучении аллергенности силимара на морских свинках-альбиносах (конъюнктивная проба, кожные тесты) и мышах (реакция ГЗТ) выявлено, что препарат может вызывать аллергические реакции немедленного типа, что следует учитывать при назначении силимара больным.

Сибектан. Влияние сибектана на функционально-биохимическое состояние печени у животных изучали с использованием двух агентов поражения печени – четыреххлористого углерода и тетрациклина. У крыс с тетрахлорметановым гепатитом наиболее отчетливое торможение нарастания патологии наблюдали на 14 сутки введения сибектана (100 мг/кг). Так, у животных опытной группы увеличение секреции желчи в 1-й час после введения со-

ставило 21,2%, а у крыс контрольной группы только 14,2% (табл. 3). Следовательно, под влиянием введения препарата нарушение желчеобразовательной функции у животных опытной группы выражено меньше, чем у контрольных крыс.

Таблица 3

Влияние сибектана на желчеотделение у крыс с тетрахлорметановым гепатитом

Группы животных, препарат, доза (мг/кг)	n	Исходный фон(мл/100 г)	После введения через, часы		
			1	2	3
Контроль + Сибектан, 100	10	0,14±0,02 100%	0,16±0,14 14,2%	0,14±0,03 +26,3%	0,12±0,01
Опыт+ Сибектан, 100	10	0,16±0,01 100%	0,194±0,02 21,2%	0,18±0,02 +12,5%	0,15±0,012

Длительность гексеналового сна у опытных животных укорачивалась на 31,5% ($P<0,01$), а выведение бензойно-кислого натрия было на 37,8 и 42,8% соответственно для доз 50 и 100 мг/кг быстрее, чем у контрольных крыс, тогда как в группах крыс, которым вводили карсил – скорость выведения бензойно-кислого натрия составила 28,0 и 36,7%.

На 7, 14-й дни отмечено отчетливое торможение АЛАТ почти в 2,5 раза у животных опытных групп, по сравнению с контролем.

Сибектан в условиях данной патологии снижал содержание МДА в печени животных, то есть проявлял антиоксидантные свойства.

В условиях тетрациклинового гепатита введение животным сибектана также отчетливо тормозило развитие цитолиза печени. Препарат замедлял уровень нарастания АЛАТ на 53,8 и АСАТ – на 51,7% по сравнению с контролем (табл. 4).

Таблица 4

Влияние сибектана на активность аминотрансфераз в сыворотке крови крыс с тетрациклиновым поражением печени

Группы животных, препарат, доза (мг/кг)	n	Активность аминотрансфераз (МЕ/л)	
		АЛАТ	АСАТ
Интактные крысы	10	42,33±7,4	1277,7±14,9
Контроль	10	260,5±9,1 100%	5627,4±12,4 100%
Сибектан, 30,0	10	120,44±18,0 +53,8%	2721,63±11,7 +51,7%
Сибектан, 100,0	10	145,00±20,12	3735,9±15,2

		+44,32%	+30,1%
--	--	---------	--------

Кроме того, под влиянием введения сибектана активируется мочевыделительная функция почек, стимулируются процессы регенерации в поврежденной слизистой желудка. Установлена радиопротекторная активность сибектана на молекулярном уровне.

Токсичность сибектана исследовали при однократном (острая) и многократном (подострая и хроническая) введении препарата. При однократном введении сибектана белым беспородным мышам и крысам обоего пола и морским свинкам субстанцию препарата вводили внутривентрально в дозах до 2500 мг/кг и внутримышечно – до 10000 мг/кг. Внутривентральное введение препарата подопытным животным в больших дозах вызывало у последних признаки интоксикации, выражающиеся двигательным возбуждением, одышкой, тремором конечностей, сменявшиеся через 15-20 минут угнетением ЦНС – снижение двигательной активности, боковое положение. При внутримышечном введении препарата мышам, крысам и морским свинкам картина отравления существенно не отличалась от вышеописанной, но была менее выражена и наблюдалась в более поздний срок – через 30-40 минут после введения препарата. Как при внутривентральном, так и при внутримышечном введении сибектана уровня среднесмертельных доз у животных достигнуть не удалось из-за сложности введения препарата. При внутривентральном введении сибектана в дозе 2500 мг/кг погибла 1 мышь из 10 и 2 морских свинки из 10. При внутримышечном введении сибектана в дозе 10000 мг/кг гибели животных не было. Таким образом, по показателям токсичности при однократном внутривентральном и внутримышечном введении мышам, крысам и морским свинкам сибектан можно отнести к классу практически нетоксичных веществ. В подостром эксперименте на крысах сибектан вводили животным в течение месяца в дозах 50, 500 и 1000 мг/кг. Максимальная из испытанных доз в 100 раз превышала суточную терапевтическую, рекомендованную для человека. Как показали результаты опытов введение сибектана во всех испытанных дозах не вызывало у животных каких-либо видимых изменений. Животные оставались активными, хорошо прибавляли в массе. У них сохранялся нормальный мышечный тонус, гладкий шерстный покров. Длительное введение сибектана не отражалось на морфологических и биохимических показателях крови, работе печени, почек, сердечно-сосудистой и центральной нервной систем. Гистологические исследования внутренних органов животных, получавших препарат, во всех испытанных дозах также не выявило признаков токсического действия сибектана. При изучении хронической токсичности на собаках, сибектан в виде готовой лекарственной формы – таблетки по 0,1 г, давали животным с кормом в течение 4 месяцев в дозах 20 и 200 мг/кг. Анализ полученных результатов не выявил существенных различий в показателях контрольных животных и собак, полу-

чавших сибектан. Патогистологические исследования внутренних органов животных, проведенные в конце 4-месячного эксперимента, подтвердили низкую токсичность сибектана.

Таким образом, выявлено, что под влиянием силимара и сибектана происходило улучшение функционального состояния и уменьшение тяжести патологического процесса в органах гепатобилиарной системы. Оба препарата оказывали ингибирующее действие на гиперлипเปอร์оксидацию в печени животных при токсическом ее повреждении. Под влиянием курсового введения силимара и сибектана у животных с экспериментальным гепатитом наблюдали уменьшение цитолитических и холестатических процессов в печени животных, о чем свидетельствовало снижение активности АЛАТ, АСАТ, γ -ГТР в сыворотке крови. Эти результаты согласуются с наблюдениями ряда авторов о том, что многие фармакологические эффекты флавоноидных препаратов осуществляются повышением их функциональной активности и способности стабилизировать биологические мембраны (1,2). При этом, стимулирующее влияние силимара и сибектана на репаративные процессы в органах, о чем свидетельствуют результаты исследований с экспериментальным воспалением и ulcerогенным повреждением слизистой желудка, согласуются с наблюдениями ряда авторов, отмечающих аналогичную особенность в действии фенольных растительных соединений при некоторых патологических состояниях (7,6,9).

Кроме того изучены лечебные свойства сибектана и силимара в двух гастроэнтерологических учреждениях г.Москвы у больных с диффузными поражениями печени, заболеваниями желчного пузыря и желудка. Препараты назначали по 0,2 г четыре раза в день за 20-40 минут до еды. У больных с хроническим персистирующим гепатитом и гепатитами токсической (в том числе алкогольной или медикаментозной) этиологии, с заболеваниями желчного пузыря и дискинезией желчевыводящих путей по гипомоторному типу, с хроническим гастродуоденитом и язвенной болезнью после лечения сибектаном субъективное улучшение наступало практически у всех больных, объективный терапевтический эффект сибектана выражался в отчетливой положительной динамике объективных показателей.

Камадол. Изучение влияния камадола на процессы репаративной регенерации проведено на мышах и крысах с использованием модели экспериментального перитонита, термического ожога, асептических кожных ран и экспериментальных язв желудка с различным механизмом повреждающего действия (этанол, лигатирование привратника). Экспериментальный перитонит у крыс вызывали внутрибрюшинным введением 0,2% азотнокислого серебра [8]. Показано, что камадол в дозах 0,1 и 0,5 мл/100 г вызывал угнетение образования серозной жидкости на 45 и 48% ($P < 0,05$), соответственно, для двух доз (табл. 5). Ожог вызы-

вали специальной установкой при t° -105°C с экспозицией 3 секунды на предварительно депиллированной поверхности кожи спины белых мышей.

Таблица 5

Влияние камадола на процесс образования брюшного экссудата
на фоне экспериментального перитонита

Препарат	Доза, мл/100 г	Количество животных	Количество экссудата в брюшной полости, мл	Экссудат, %
Контроль, масло расторопши	0,5	10	2,02±0,296	-
Камадол	0,1	10	1,11±0,176	45,1
	0,5	10	1,05±0,154	48,1

Камадол, введенный внутривентрально в дозах 0,1 и 0,5 мл/мышь и 0,2 мл - накожно, ускорял наступление эпителизации на 4 дня раньше, чем у контрольных мышей. Камадол также ускорял заживление асептических кожных ран у крыс.

Изучение влияния камадола на экспериментальные язвы желудка крыс, вызванные введением этанола и лигатурованием (15,16) привратника показало отчетливое гастропротекторное действие, которое характеризовалось уменьшением количества животных с дефектами слизистой, количества дефектов и их площади у “больных” крыс, индекса Паулса по сравнению с данными контрольных животных (таблица 6). Камадол при внутривентральном введении крысам с тритоновой и витаминной гиперлипидемией вызывает также небольшое гипохолестеринемическое действие.

Таблица 6

Влияние камадола на язвы желудка крыс, вызванные перевязкой привратника

Препарат, доза, мл/100 г	Гибель крыс, %	Крысы с язвами, %	Средняя частота возник- новения язвенных дефектов	Индекс Паулса	Тера- пев- тичес- кий эффект	Средняя площадь язвен- ных де- фектов	Индекс Паулса	Терапев- тический эффект
Контроль, масло рас- торопши	0	75	4,3±1,2	3,3	-	11,4±2,5	8,6	-
Камадол, 0,25	0	25	2,8±0,9	0,7	4,6	10,1±3,2	3,4	2,5
Камадол, 0,5	0	37,5	3,3±0,7	1,2	2,7	7,5±2,8	2,8	3,1

Безопасность камадола изучали при однократном и многократном введении препарата животным. При исследовании “острой” токсичности камадола при однократном внутри-

желудочном введении, гибели мышей и крыс не было даже после применения максимально возможных доз камадола – 20,0 мл/кг. В процессе эксперимента не отмечено половых и видовых различий в чувствительности животных к исследуемому препарату. По полученным данным камадол может быть отнесен к разряду относительно безвредных веществ. В хроническом 3-месячном эксперименте на белых беспородных крысах, получавших ежедневно внутрижелудочно 10 мл/кг камадола (10-кратная терапевтическая доза, рекомендованная для человека), не обнаружено признаков токсического действия препарата. Морфологические и биохимические показатели крови, данные электрокардиографических исследований, результаты функционального исследования почек, центральной нервной системы у контрольных крыс и получавших препарат, достоверно не отличались, что подтверждено и патогистологическими исследованиями внутренних органов подопытных животных. При изучении хронической токсичности камадола на собаках, получавших в течение 3 месяцев 3 мл/кг камадола (3-кратная терапевтическая доза), также не было выявлено признаков, указывающих на токсичность камадола ни в одном из примененных тестов. Изучение токсичности камадола при наружном нанесении на депилированный участок кожи кроликов в течение 3 месяцев в дозе 1 мл/кг не выявило общерезорбтивного действия препарата.

Исследование специфических видов токсичности камадола – мутагенных, иммуномодулирующих и аллергизирующих свойств, позволило установить следующее. В тестах по учету доминантных леталей в зародышевых клетках мышей и хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей не выявлено повреждений генома клеток, что свидетельствует об отсутствии у камадола мутагенных свойств. Отрицательные результаты накожных проб и реакции гиперчувствительности замедленного типа указывают на то, что камадол не обладает сенсibilизирующей активностью. Для изучения иммуномодулирующих свойств камадола были использованы тесты по определению антителообразующих клеток в селезенке и обратного титра гемагглютининов; реакция “трансплантат против хозяина”. Опыты проводились на мышах линии СВА и мышах-гибридах F₁ СВАхС₅₇В1. Исследования показали, что камадол не оказывает значительного влияния на иммунную систему животных. Исследования также показали, что камадол не оказывает значительного влияния на репродуктивную функцию животных.

Таким образом, на основе расторопши пятнистой в институте создано три лечебных препарата, разрешенных Минздравом России для медицинского применения: “Силимар”, “Сибектан” и “Камадол”.

Силимар применяют как гепатозащитное средство для улучшения функции печени при гепатитах и циррозе печени.

Сибектан используют в качестве гепатопротекторного средства при хроническом персистирующем гепатите, хроническом холецистите и гипомоторной дискинезии желчного пу-

зыря. Сибектан применяют также в комплексной терапии цирроза печени и жировой дистрофии печени алкогольного генеза.

Камадол разрешен для медицинского применения в качестве наружного противовоспалительного, усиливающего процессы регенерации средства для лечения воспалительных заболеваний кожи и слизистых оболочек, в том числе механических и физических травм кожи (ссадин, царапин, трещин, трофических язв, вялозаживающих ран и свищей), а также ограниченных ожоговых поражений кожи в стадии регенерации; в стоматологии – при воспалительных заболеваниях полости рта и пародонта; в гинекологии – для лечения кольпитов и эрозий шейки матки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., (1976), - Биологическое действие растительных фенольных соединений, Киев, 260 с.
2. Безрук П.И., (1970), - Фармакологические данные о некоторых альфа- и гамма-пионовых веществах, желчегонного и сердечно-сосудистого действия, Автореф.дисс.доктора мед.наук, Харьков, 41 с.
3. Блюгер А.Ф., (1975), - Основы гепатологии, Рига, 470 с.
4. Браатц Р., (1981), - Фармакодинамика и фармакокинетика силимарина, Симпозиум по клиническому значению препарата легалон, Материалы, Москва, с.53-57.
5. Дрогозов С.М., (1971), - Нарушение интенсивности желчеотделения и химического состава желчи при дистрофии печени, вызванной четыреххлористым углеродом, “Вопросы медицинской химии”, т.17, № 4, с.397-400.
6. Калашников Н.А. и Геращенко Г.И., (1974), - О противовоспалительной активности некоторых флавоноидов, Актуальные вопросы фармации, Ставрополь, с.353-354.
7. Колла В.Э. и Билич Г.Л., (1978), - Перспективы поиска стимуляторов регенерации среди растительных препаратов, содержащих биофлавоноиды, Фармакологическая регуляция регенераторных процессов в эксперименте и клинике, Горький, с.3-10.
8. Кудрин А.Н., Левшин Б.И., Мехтиев М.А., (1982), - Фармакотерапия препаратами селена экспериментального гепатита, Баку, ЭЛМ, с.9-19.
9. Леберман С.С. и соавт., (1972), - Ж. “Фармакология и токсикология”, № 3, с.333.
10. Оболенцева Г.В. и Хаджай Я.И., (1964), - Влияние некоторых флавоноидных соединений на образование экспериментальных язв желудка крыс, “Бюллетень экспериментальной биологии и медицины”, № 9, с.86-88.
11. Олейник А.Н. и Овсянникова Л.М., (1983), - О механизме прооксидантного действия тетрациклина, “Антибиотики”, т.28, № 11, с.845-848.

12. Скакун Н.И. и Олейник А.Н., (1967), - Сравнительное действие атропина и метопролола на внешнесекреторную функцию печени, "Фармакология и токсикология", № 3, с.334-337.
13. Петровский Ю.А., (1974), - Внешняя секреция печени, Львов.
13. Allain C.C., Poon L. Et al., (1974), - v.20, p.476.
14. Plazer L., Kizela L., (1968), - "Acta Biol.Med.Germ.", Bd.21, № 8, S.121-124.
15. Robert A., Nejamis I.E., (1983), - Am.J.Physiol., v.245, p.113-121.
16. Shay H., Komarov S.A., (1945), - Gastroenterol., v.5, p.43-61.

Baginskaya A.I., Kolkhir V.K., Schkarenkov A.A., Gorodnyuk T.N., Glazova N.G., Leskova T.E., Krepkova L.V., Bortnikova V.V., Vichkanova S.A., Krutikova N.M.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

THE MEDICINAL REMIDIES, WHAT HAVE BEEN CREATED ON THE BASIS OF SILYBUM MARIANUM FRUITS (SMF).

The preparations of hepatoprotective action from SMF (Legalon, Carsil, Silybin) - are well known. The home (russian) hepatoprotector SILYMAR, is a dry of SMF, it is obtained after removing oil out of the fruits by the method of cold pressing. In the animal experiments the preparation showed high anti-hepatotoxic, anti-oxidant activity and some other useful properties. The oil of the SMF is used in the original wound-healing preparation KAMADOL. Silymar is one of the parts of poly-componental phytopreparation SIBEKTAN, what is used for the treatment of hepato-biliary system diseases.

БАГИНСКАЯ А.И., КОЛХИР В.К., ЛЕСКОВА Т.Е., ГОРОДНЮК Т.Н., СОКОЛОВ С.Я.,
РЫБАЛКО К.С.

ВИЛАР, Москва, Россия

РОТОКАН – ПРЕПАРАТ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО И РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ.

Ротокан - отечественный стандартизованный лечебный препарат растительного происхождения. Ротокан представляет собой смесь жидких экстрактов (40% этиловым спиртом) ромашки, календулы и тысячелистника. Импортный препарат ромазулан, который применяется в качестве противовоспалительного средства, состоит из 96мл 40% экстракта ромашки, 0,066 г азулена и 4 г твина-80. Недостатками ромазулана являются наличие в нем твина-80,

применяемого в качестве эмульгатора и не являющегося индифферентным веществом, а также синтетического азулена, содержащего токсические примеси, введенного вместо ранее использовавшегося эфирного масла ромашки с хамазуленом.

Учитывая известные лечебные свойства растений, входящих в ротокан, для характеристики влияния его на репаративные процессы в патологически измененных тканях использовали модели экспериментальных язв желудка и экспериментального воспаления [7-9]. Исследовали спазмолитическую и гемокоагуляционную активность ротокана.

Из экспериментальных моделей язв желудка, воспроизводящих воспалительно-дистрофические изменения в слизистой оболочке, при изучении ротокана применяли кофеиново-мышьяковистые язвы [4], бутадиионовые [10], а также язвы, вызванные лигатурованием пилоруса [16], в модификации [14]. Эти модели основаны на резорбтивном и, частично, нейрогенном (по Шею) действии применяемых ulcerогенных агентов или приемов. Так, кофеиново-мышьяковистые язвы желудка обусловлены одним из проявлений дистрофических изменений, вызываемых в слизистой мышьяком и натрием гидрокарбонатом в условиях преобладания процессов возбуждения, вызываемых и поддерживаемых кофеином [2, 4]. Ulcerогенное действие бутадииона является его отрицательным побочным эффектом, характерным для потивовоспалительных средств нестероидной структуры, и связанным с нарушением синтеза простагландинов в слизистой оболочке желудка, что ведет к нарушению кровообращения в нем и, вследствие этого, появлению язвенных изменений [11, 2, 15]. В механизме язв, вызванных лигатурованием пилоруса, участвуют два ведущих момента, имеющих большое значение в патогенезе язвенной болезни желудка. Так, ряд авторов [11, 3, 1] на основании фармакологического и физиологического анализа считают, что эта модель экспериментальных язв желудка является отчасти результатом рефлекса и имеет, до некоторой степени, нейрогенное происхождение. Возникновение таких язв предотвращается в подавляющем количестве случаев веществами, прерывающими рефлекторную дугу в одном из ее звеньев, причем, не только спазмолитиками, но и транквилизаторами [14, 17, 10]. Вместе с тем, вызываемое перевязкой привратника накопление желудочного сока также принимает участие в развитии этих язв [4, 8].

Для характеристики влияния ротокана на развитие деструктивных изменений в слизистой учитывали ряд показателей состояния животных и слизистой желудков после их вскрытия в контрольных и опытных группах: гибель животных, процент крыс с язвами желудка, среднюю частоту возникновения и площадь язвенных дефектов. На основании определения количества язвенных дефектов и их площади высчитывали интегральный показатель противоязвенной активности - индекс Паулса [13, 15]. Противоязвенную активность характеризовало также соотношение индексов Паулса в контрольной и опытной группах, так как счита-

ют [6], что величина этого отношения, равная 1, означает отсутствие эффекта, а его увеличение - положительный терапевтический эффект.

При проведении исследований уменьшали процент спирта в препарате путем разведения его водой (1:10, 1:100, и т.д.). В качестве препарата сравнения использовали ромазулан.

Изучение противоязвенной активности ротокана на модели кофеиново-мышьяковистых язв желудка проводили на крысах-самцах массой 180-200 г. Кофеиново-мышьяковистую смесь вводили животным ежедневно в течение 10-ти дней. Через час после введения ulcerogenic agent животным вводили ротокан и ромазулан в дозах 0,1, 2,5 и 3,3 мл/кг, контрольные животные получали в том же объеме спирт, разведенный аналогично разведению препаратов.

Как показывает анализ результатов, полученных в трех сериях экспериментов, о положительном дозозависимом эффекте ротокана на слизистую желудка крыс свидетельствовало уменьшение на 20-30% числа животных в опытных группах с патологией слизистой, в 1,5-2,5 раза - среднего количества язвенных дефектов, в 2-7 раз - площади язвенных дефектов, а также значительная терапевтическая эффективность по сравнению с контрольной группой крыс (табл.1). Ромазулан оказывал более слабое защитное действие на слизистую желудка крыс.

Таблица 1

Влияние ротокана на кофеиново-мышьяковистые язвы желудка у крыс

Препарат, доза в мл/кг	n	Гибель крыс, %	Крысы с язвами, %	Средняя частота возникновения язвенных дефектов	Индекс Паулса	Терапевтический эффект	Средняя площадь язвенных поражений, мм ²	Индекс Паулса	Терапевтический эффект
Контроль	10	0	100	4,4±1,28	4,4	-	5,5±2,9	5,5	-
Ротокан, 0,1	10	0	70,0	2,8±0,74	1,96	2,2	1,4±0,81	0,98	5,5
Ромазулан, 0,1	10	0	99,0	3,1±0,86	2,8	1,6	2,77±1,02	2,5	2,2
Контроль	10	10	77,8	5,6±0,94	4,36	-	6,8±2,46	5,29	-
Ротокан, 0,25	10	10	55,6	2,2±0,92	1,5	2,9	4,5±3,7	2,5	2,1
Ромазулан, 0,25	10	0	90,0	6,4±2,1	5,76	0,76	7,22±3,8	6,5	0,82

Контроль	10	0	80,0	5,8 \pm 2,07	4,6	-	11,2 \pm 3,87	8,96	-
Ротокан, 3,3	10	0	60,0	1,3 \pm 0,45	0,78	5,95	1,39 \pm 0,66	0,8	11,3
Ромазулан, 3,3	10	0	100,0	11,8 \pm 4,2	11,8	0,39	7,66 \pm 3,02	7,7	1,2

Εξο-αίεα δίοιέαια ία ίοдели язв желудка, вызванных лигатурованием пилоруса (по Шею) проводили на крысах-самцах массой 180-220г. с предварительно проведенной лапаротомией и наложением лигатуры на пилорическую часть желудка с последующим послойным зашиванием тканей. Опытным крысам после окончания оперативного вмешательства подкожно вводили ротокан или ромазулан в дозах 0,1-5,0мл/100г массы животного в объеме 1,0мл/100г. Через 18 часов животных забивали декапитацией, вскрывали брюшную полость, извлекали желудок. Определяли объем содержимого желудка, измеряли и проводили обычный клинический биохимический анализ. При введении ротокана в дозах 0,1 и 5,0 мл/кг также наблюдали дозозависимую защитную эффективность препарата на слизистую желудка по всем параметрам, описанным выше. Наиболее отчетливый защитный эффект ромазулана наблюдался в дозе 5,0 мл/кг (табл. 2).

Таблица 2

Влияние ротокана на экспериментальные язвы желудка у крыс,
вызванные лигатурованием пилоруса (по Шею)

Препарат, доза в мг/кг	n	Гибель крыс, %	Крысы с язвами, %	Средняя частота воз- никновения язвенных дефектов	Индекс Паулса	Тера- пев- тичес- кий эффект	Средняя площадь язвенных поражений, мм ²	Индекс Паулса	Тера- пев- тичес- кий эффект
Кон- троль	19	21,0	93,3	18,8 \pm 6,14	17,6	-	19,8 \pm 6,9	5,5	-
Ротокан, 0,1	19	36,8	75,0	3,5 \pm 2,24	6,4	2,7	4,4 \pm 1,33*	0,98	5,5
Ромазулан, 0,1	20	20,0	81,3	9,8 \pm 2,4	7,96	2,2	4,6 \pm 1,6*	2,5	2,2
Контроль	28	28,6	95,0	26,7 \pm 4,0	25,4	-	33,8 \pm 6,47	32,1	-
Ротокан, 5,0	30	20,0	58,3	6,7 \pm 2,0***	3,9	6,4	8,2 \pm 2,5***	4,8	6,7
Ромазулан, 5,0	29	6,8	29,6	3,6 \pm 1,5***	1,1	25,0	4,7 \pm 2,7***	1,4	22,9

* - достоверность отличия от контроля при p<0,05

***- достоверность отличия от контроля при p<0,001

В группе крыс, которым вводили ромазулан в дозе 5,0 мл/кг наблюдали снижение содержания свободной соляной кислоты на 32% ($35,6 \pm 7,29$) по сравнению с контрольной группой ($57,5 \pm 4,91$, $P=0,05$) и повышение общей кислотности желудочного сока в 1,5 раза по сравнению с контролем (табл. 3). Не отмечено существенного влияния ротокана и ромазулана на секрецию желудочного сока.

Таблица 3

Влияние ротокана на биохимические показатели желудочного сока крыс с экспериментальными язвами желудка по Шею.

Препарат, доза в мл/кг	Желудочный сок в мл/100г	рН желу- доч-ного сока	Свободная HCl	Пепсин желудоч- ного сока
			Общая кислотность	
Контроль	$6,1 \pm 0,48$	$2,3 \pm 0,16$	$42,14 \pm 3,2$	$26,45 \pm 1,27$
			$85,7 \pm 6,4$	
Ротокан, 0,1	$6,4 \pm 0,28$	$2,04 \pm 0,08$	$48,46 \pm 5,41$	$27,2 \pm 1,2$
			$102,31 \pm 7,52^{***}$	
Ромазулан, 0,1	$5,85 \pm 0,47$	$2,13 \pm 0,14$	$38,75 \pm 3,86$	$29,73 \pm 0,97$
			$90,63 \pm 4,52^{***}$	
Контроль	$4,82 \pm 0,71$	$2,69 \pm 0,27$	$57,5 \pm 4,91$	$24,64 \pm 1,5$
			$98,75 \pm 9,34$	
Ротокан, 5,0	$3,67 \pm 0,22$	$2,63 \pm 0,32$	$43,75 \pm 4,6$	$25,4 \pm 2,23$
			$93,75 \pm 4,2^*$	
Ромазулан 5,0	$4,2 \pm 0,25$	$2,46 \pm 0,29$	$35,6 \pm 7,29$	$27,83 \pm 2,37$
			$86,67 \pm 7,45^*$	

* - достоверность отличия от контроля при $p < 0,05$

***- достоверность отличия от контроля при $p < 0,001$

Таким образом, на данной модели язв парэнтеральное введение ротокана в дозах 0,1 и 5 мл/кг частично или полностью тормозило развитие язвенных деструкций в слизистой, а ромазулан оказывал наиболее четкий эффект только в дозе 5 мл/кг. Существенного влияния ротокана и ромазулана на секрецию и биохимические показатели желудочного сока не отмечено.

Изучение ротокана на модели бутадионовых язв желудка у крыс проводили при однократном внутрибрюшинном введении бутадиона в дозе 200 мл/кг и трехдневном – в дозе 100 мл/кг, через 1 час после введения ротокана или ромазулана в дозе 5 мл/кг. Наиболее отчетливое лечебное действие ротокана проявлялось при однократном введении бутадиона: яз-

венные деструкции у животных наблюдали в 1,3 раза, а количество деструкций - в 4,7 раза меньше, чем у контрольных крыс, при этом площадь язвенных дефектов в 4 раза меньше, чем в контроле. О положительном действии ротокана в данных условиях опыта свидетельствует более высокий показатель терапевтической эффективности (табл.4). При трехразовом введении бутадiona гибель крыс возрастала как в контрольной, так и в опытных группах, особенно в группе крыс, получавших ромазулан (80%). Лечебный эффект ротокана, как и ромазулана, в данных условиях опыта выражен слабее, однако степень изъязвления и площадь язвенных дефектов меньше, чем у контрольных крыс, что свидетельствует о терапевтической эффективности препарата.

Таблица 4

Влияние ротокана на бутадionoвые язвы желудка у крыс.

Препарат, доза в мл/кг	Число крыс в опыте	Гибель крыс, %	Крысы с язвами, %	Средняя частота возникновения язвенных дефектов	Индекс с Паулса	Терапевтический эффект	Средняя площадь язвенных поражений	Индекс Паулса	Терапевтический эффект
Однодневное введение бутадiona									
Контроль	10	0	80,0	5,4±1,95	4,32	-	11,03±3,52	8,8	-
Ротокан, 5,0	10	20,0	62,5	1,13±0,58	0,7	6,2	2,75±1,45	1,72	5,1
Ромазулан, 5,0	10	10,0	66,7	4,11±1,66	2,29	1,89	10,7±4,26	5,94	1,48
Трехдневное введение бутадiona									
Контроль	8	62,5	100,0	6,7±2,03	6,7	-	16,0±4,0	16,0	-
Ротокан, 5,0	10	60,0	75,0	3,0±1,47	2,25	2,98	9,75±5,22	7,3	2,2
Ромазулан, 5,0	10	80,0	100,0	14,0±11,0	14,0	0,48	5,9±5,6	5,9	2,7

Противовоспалительное действие ротокана изучали путем оценки его влияния на течение острой экссудативной и хронической пролиферативной фаз воспалительной реакции у животных. Антиэкссудативное действие ротокана и ромазулана изучали на мышах и крысах при четырехдневном введении в дозе 0,1 мл/100 г массы животного. В день опыта препараты вводили за один час до и один час после воспроизведения отека лапки мышей, вызванного субилантарным введением 0,05 мл 1% формалина или 6% декстрина. На пике развития воспалительной реакции (через три часа после введения флогогенного агента) животных забивали эфиром, отечные конечности ампутировали и взвешивали. По разнице веса ампутиро-

ванных конечностей у животных контрольных и опытных групп судили об антиэкссудативном действии препаратов. Ротокан тормозил развитие экссудативного формалинового отека на 26,2%, ромазулан на 15,5%. В отношении декстринового отека эффекта не установлено (табл.5).

Таблица 5.

Влияние ротокана на развитие воспалительного отека лап мышей, вызванного введением формалина и декстрана.

Препарат, доза в мл/100 г	Формалиновый отек			Декстриновый отек		
	Вес конечности в г		Эффект в %	Вес конечности в г		Эффект в %
	Исходный фон	На пике воспаления		Исходный фон	На пике воспаления	
Контроль	138,6 \pm 12,7	202,5 \pm 10,3	-	137,5 \pm 8,4	196,7 \pm 6,5	-
Ротокан, 0,1	138,7 \pm 11,4	186,3 \pm 8,6	26,2	137,2 \pm 9,1	197,0 \pm 11,0	-
Ромазулан, 0,1	139,2 \pm 4,9	193,7 \pm 10,6	15,5	139,4 \pm 6,8	198,5 \pm 10,3	-

Экспериментальный перитонит вызывали у белых крыс внутрибрюшным введением 0,2% азотнокислого серебра. Через 5-6 часов животных забивали, экссудат собирали и измеряли его количество в мл. Ротокан в дозе 0,1 мл/100г уменьшал образование экссудата на 24,7%, а ромазулан- на 22,4% по сравнению с контрольными животными (табл. 6).

Таблица 6

Влияние ротокана на образование перитонеального экссудата у крыс.

Препарат, доза, мл/100г	n	Перитонеальный экс- судат, мл	Эффект, %
Контроль	8	2,6 \pm 0,41	-
Ротокан 0,1	10	1,96 \pm 0,15	24,7
Ромазулан 0,1	9	2,02 \pm 0,23	22,4

Влияние ротокана на пролиферативную фазу воспаления изучали на мышцах массой 16-18г путем имплантирования под кожу спины ватных шариков. Ротокан и ромазулан в дозе 0,1 мл/100г при введении внутрь не оказывали ингибирующего действия на рост грануляционно-фиброзной ткани.

Влияние ротокана на заживление кожных асептических ран изучали на крысах массой 180-200 г. Ротокан и ромазулан вводили внутрь в дозе 0,1 мл/100 г и накожно по 0,2 мл два

раза в день. Критерием количественной оценки ранозаживляющей активности препаратов служили изменение площади раневой поверхности в динамике, скорость краевой эпителизации и полное заживление ран в днях. Под влиянием введения ротокана заживление ран наступило на 2,7 дня (у ромазулана- на 1,8 дня) раньше, чем у контрольных крыс.

Изучение влияния ротокана на прочность заживления экспериментальных ран у крыс проведено с использованием метода тензиометрии. Суть метода заключается в изменении прочности раневого рубца, которая зависит от скорости коллагенообразования и фибриногенеза в процессе развития воспаления. Предел прочности вычисляли по формуле $\delta P/E$, где δ - предел прочности в г/мм, P - масса, разрывающая рубец в г, E - площадь в месте разрыва. Ротокан и ромазулан вводили животным внутрь в дозе 0,1 мл/100г и наружно 0,2 мл два раза в день. Ротокан увеличивал прочность раневого рубца на 50% по сравнению с контролем, и на 25% - с ромазуланом (табл. 7). Таким образом, ротокан не только ускоряет заживление асептических ран, но и увеличивает предел прочности тканевого рубца.

Таблица 7.

Влияние ротокана на прочность заживления линейных ран кожи крыс.

Препарат, доза, мл/100г	n	Предел прочности линейного рубца на разрыв, г/мм	P*	P**
Контроль	10	41,02 \pm 2,64	-----	-----
Ротокан, 0,1	10	61,87 \pm 4,9	<0,002	<0,02
Ромазулан, 0,1	10	51,73 \pm 2,58	<0,01	-----

* - достоверность различий с контролем

** - достоверность различий с ромазуланом

Влияние ротокана на тонус гладкой мускулатуры кишечника изучали с использованием спазмогенных агентов миотропного (хлористый барий 1×10^{-4}) и нейротропного (ацетилхолин 1×10^{-6}) действия. Ротокан применяли в разведении 1:100, 1:500, 1:1000 и 1:10000 мл/мл раствора Рингера. Установлено, что ротокан в разведении 1:100 полностью снимал ацетилхолиновый и бариевый спазмы гладкой мускулатуры кишечника, т.е. оказывал отчетливое спазмолитическое действие (табл. 8).

Таблица 8.

Влияние ротокана на спазм гладкой мускулатуры кишечника крыс.

Концентрация ротокана, мл/мл	Величина спазма					
	Ацетилхолин		Эффект, %	Хлористый барий		Эффект, %
	Исходный фон	На пике спазма		Исходный фон	На пике спазма	

1:100	48,0 \pm 8,0	3,1 \pm 1,8	100	36,0 \pm 4,7	0,6 \pm 1,0	100
1:500	59,0 \pm 15,0	-	51	34,0 \pm 5,0	15,0 \pm 5,0	56
1:1000	37,0 \pm 5,6	-	59	-	-	-

Влияние ротокана и ромазулана (0,5 мл/кг) на некоторые показатели свертывания крови кроликов изучали при их однократном и многократном (в течение 7-ми дней) пероральном введениях. У всех животных определяли общепринятые показатели системы гемостаза: время рекальцификации плазмы крови (Тр), толерантность плазмы крови к гепарину (ТПГ), тромбиновое время (Та), тромбопластиновую активность плазмы крови (Ра), тромбоэластографические показатели (R, K, Ma). Результаты первой серии экспериментов показали некоторое снижение свертывающего потенциала крови под влиянием ротокана в первые два часа после его введения: Тр увеличивалось на 10-14%, ТПГ - на 5-10%, время R (на максимуме действия) - на 37%, время K - на 25-40%. Через 4 часа после введения препарата свертывание нормализовалось, а по показателям Тр, ТПГ и Та даже несколько повышалось на 8-10%. Ромазулан в тех же условиях опыта существенно не влиял на свертываемость крови.

Во второй серии опытов установлено, что ротокан уже на 2-ой день введения оказывал гемостатический эффект и это действие наблюдали на протяжении всего эксперимента. Наиболее отчетливо оно проявлялось на 4-й день введения, когда Тр укорачивалось на 19% ($P<0,05$), время R - на 45% ($P<0,05$), K - на 58% ($P<0,05$). Ромазулан также повышал свертываемость крови, но его действие было менее выражено и не так стабильно, как у ротокана. Таким образом, проведенные исследования показали, что ротокан оказывает двухфазное действие на свертывание крови: в первые два часа после введения - слабое антикоагулянтное действие, в дальнейшем - выраженное гемостатическое. Препарат сравнения - ромазулан не оказывал существенного влияния на процесс свертывания крови.

Заключение.

Сравнительное изучение влияния ротокана и ромазулана на развитие деструктивных процессов в слизистой, экспериментальное воспаление, скорость заживления и прочность раневого рубца показало, что комплексный препарат ротокан заметно превосходит по активности ромазулан. Кроме того, ротокан обладает выраженным гемостатическим действием и спазмолитическим эффектом в отношении гладкой мускулатуры кишечника. Препарат малотоксичен.

Ротокан разрешен для медицинского применения. В стоматологии его применяют местно при воспалительных заболеваниях слизистой оболочки полости рта различной этиологии и пародонта (афтозный стоматит, пародонтит, язвенно-некротический гингивостоматит и др.). В гастроэнтерологии ротокан назначают внутрь при эрозивно-язвенных поражениях

желудка и 12-перстной кишки, гастро-дуоденитах, хронических энтеритах и колитах, хронических холециститах и постхолецистэктомическом синдроме.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Аничков С. В., Заводская Н. С (1965) В кн.: Фармакотерапия язвенной болезни, Л.
2. Кузьмина К. А. (1953) Фармакол. и токсикол. №1, с. 26-28
3. Липовский С. М. (1964) В кн.: Труды Ленингр. сан.-гиг. Мед. Ин-та. т. 79, с. 116-120
4. Мещерская К. А. (1954) Фармакол. и токсикол., №5, с. 26
5. Мохерт М. А. (1971) Фармакол. и токсикол. №3, с. 297
6. Оболенцева Г. В. (1964) Фармакологическое исследование противоязвенного действия некоторых флавопоеидов. Автореф. дисс.
7. Обысов А.С. (1971) В кн.: Надежность биологических тканей, М.
8. Понаморов-Астраханцев Н.П. (1954) Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментальных терапевтических исследований, Ленинград.
9. Тринус Ф. И. и соавт. (1975) В кн.: Нестероидные противовоспалительные средства, Киев
10. Ходжаев Б. Р. (1963) В кн.: Ин-т эксперим. Мед. АМН СССР. Ежегодник за 1961-1962 гг. т. VII-VIII, части 1, 2 и 3. Л., с. 216
11. Ясиновская М. А. и соавт. (1972) Противоревматические средства, Киев
12. Blum H., Mutschler E. et al. (1967) Arch. Pharmakol. Und Expte. Pathol. V.256, №1, P.99-111
13. Harkins H. W. (1947) Bull. John. Hopk. Hosp. V.80, P.174
14. Main J. H. M., Whittle B. J. R. (1975) Brit. J. Pharmacol. V.53, P. 217
15. Pauls E. (1947) Gastroenterology, №8, p.774
16. Radecki T. et al. (1956) Acta physiol. Pol. V.7, P.7
17. Robert A. (1974) Gastroenterology, V.66, P.111
18. Shay H. et al. (1945) Gastroenterology V.5, P.43
19. Sun D., Chen I., (1963) In: Pathophysiology of peptic ulcer. Ed. S.C.Skoryna, P.141
20. Varro et al. (1963) In: Pathophysiology of peptic ulcer. Philadelphia. Ac. Press, P.281

Baginskaya
A.I.,

Kolkhir V.K., Leskova
T.E.,

Gorodnyuk
T.I.

Sokolov S.Ya.,

Ribalko K.S.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

**ROTOCAN (ROTOCANUM) – AN ANTIINFLAMMATORY AND WOUND-
HEALING REMEDY**

Rotocanum contains a mixture of liquid alcoholic extracts of Chamomillae, Nalendulae, Millefolii. It used in stomatology and gastroenterology as an antiinflammational and reparative remedy and topical - as a wound-healing remedy. The article reports data of the experimental investigation of the specific pharmacological activity of the preparation.

ВИЧКАНОВА С.А., КОЛХИР В.К., КРУТИКОВА Н.М., АДГИНА В.В., ФАТЕЕВА Т.В.,
СОКОЛЬСКАЯ Т.А.

ВИЛАР, Москва, Россия

САНГВИРИТРИН – ПРЕДСТАВИТЕЛЬ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ

Последние 50 лет уходящего столетия ознаменовались крупными достижениями в области лечения заболеваний, вызываемых различными инфекционными агентами. К числу таких достижений относится создание антибиотиков и синтетических химиотерапевтических средств, воздействующих на патогенный возбудитель. Однако, постоянное и широкое, при этом не всегда оправданное, применение антибиотиков и синтетических химиотерапевтических средств, приводит к ряду явлений, осложняющих возможность их рационального использования. К ним относятся: возникновение аллергических реакций от применения большинства антибиотиков и, как следствие, аллергизация населения, особенно детей; наличие серьезных побочных (токсических) эффектов на системы и органы; развитие лекарственной резистентности микроорганизмов к известным антимикробным средствам; нарушение нормального состава микрофлоры макроорганизма, приводящее в конечном итоге к расширению спектра патогенной микрофлоры за счет микроорганизмов, ранее относившихся к условно-патогенным, и появлению новых инфекционных процессов (дисбактериозы, бактерионосительство и выделение патогенного возбудителя в окружающую среду). Поэтому актуальность разработки оригинальных антимикробных средств иной природы, с новыми свойствами и принципиально другим механизмом действия является несомненной. Проводимые во Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений исследования привели к созданию эффективных лечебных средств, среди которых достойное место занимает препарат широкого антимикробного спектра действия - «Сангвиритрин».

Сангвиритрин, получаемый из растений рода Маклейя представляет собой сумму бисульфатов алкалоидов сангвинарина и хелеритрина. Сангвиритрин обладает широким спектром антимикробной активности в отношении патогенных и условнопатогенных микроорганизмов, в том числе полирезистентных, рода *STAPHYLOCOCCUS*, *STREPTOCOCCUS*, *ENTEROCOCCUS*, *SHIGELLA*, *ESCHERICHIA*, *SALMONELLA*, *PROTEUS*, *ACINETOBACTER*, *CITROBACTER*, *PSEUDOMONAS*, *SERRATIA*, *KLEBSIELLA*, *ANTRACOIDES*,

CRYPTOCOCCUS, патогенных грибов рода *MICROSPORUM*, *TRICHOPHYTON*, *NOCARDIA*, *ASPERGILLUS*, дрожжеподобных грибов рода *CANDIDA*, в том числе полирезистентных штаммов микроорганизмов, а также *ACTINOMYCES* и некоторых патогенных простейших. Важной особенностью сангвиритрина является отсутствие развития устойчивости к нему микроорганизмов. В основе механизма антимикробного действия сангвиритрина лежит подавление бактериальной нуклеазы, нарушение процессов проницаемости клеточных стенок, перегородок деления, строения нуклеоида (3-9).

В медицинской практике сангвиритрин ранее был разрешен для применения в качестве наружного антимикробного средства (ранее выделен из хохлаток под старым названием «Сангвинарин») в виде 1% линимента, 0,2% водно-спиртового раствора и 0,1-0,001% водных растворов (приготавливаемых *ex tempore*) при гнойно-воспалительных заболеваниях кожи и слизистых оболочек у взрослых и детей. Так, сангвиритрин назначают у новорожденных для предупреждения гнойно-воспалительных заболеваний кожи, у хирургических больных - для профилактики и лечения раневой инфекции, а также при инфицированных ожогах, длительно незаживающих ранах и язвах; в стоматологии - при пародонтите, афтозном стоматите, язвенно-некротическом гингивостоматите и других поражениях слизистой оболочки полости рта; в оториноларингологии - при заболеваниях среднего уха и наружного слухового прохода; в гинекологии - при эндоцервиците, кольпите, вагините, эрозии шейки матки; в дерматологии - при пиодермиях, поверхностных бластомикозах, дерматомикозах, онихомикозах и др. (1, 2, 13-20).

В настоящее время создан антимикробный препарат общерезорбтивного действия в виде таблеток сангвиритрина с кишечнорастворимым покрытием. Изучение биодоступности показало, что данный препарат полностью распадается и растворяется в искусственном кишечном соке в течение 35 минут, обеспечивая необходимую терапевтическую эффективность (10).

Изучение переносимости и эффективности кишечнорастворимых таблеток сангвиритрина в качестве антимикробного средства общерезорбтивного действия проведено в 5 лечебных учреждениях на 430 больных, из них 207 взрослых пациентов в возрасте от 15 до 85 лет и 223 детей в возрасте от 1 года до 14 лет (табл. 1). Все клиники подчеркивают, что сангвиритрин в виде таблеток с кишечнорастворимым покрытием при приеме внутрь в терапевтических дозах обладает хорошей переносимостью у детей и взрослых, не оказывает местных и общих отрицательных явлений на организм больного, не приводит к аллергизации и другим побочным действиям (11, 12, 16, 21).

ОБЪЁМ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
КИШЕЧНОРАСТВОРИМЫХ ТАБЛЕТОК САНГВИРИТРИНА ПО 0,005 г
В КАЧЕСТВЕ АНТИМИКРОБНОГО СРЕДСТВА
ОБЩЕРЕЗОРБИТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ

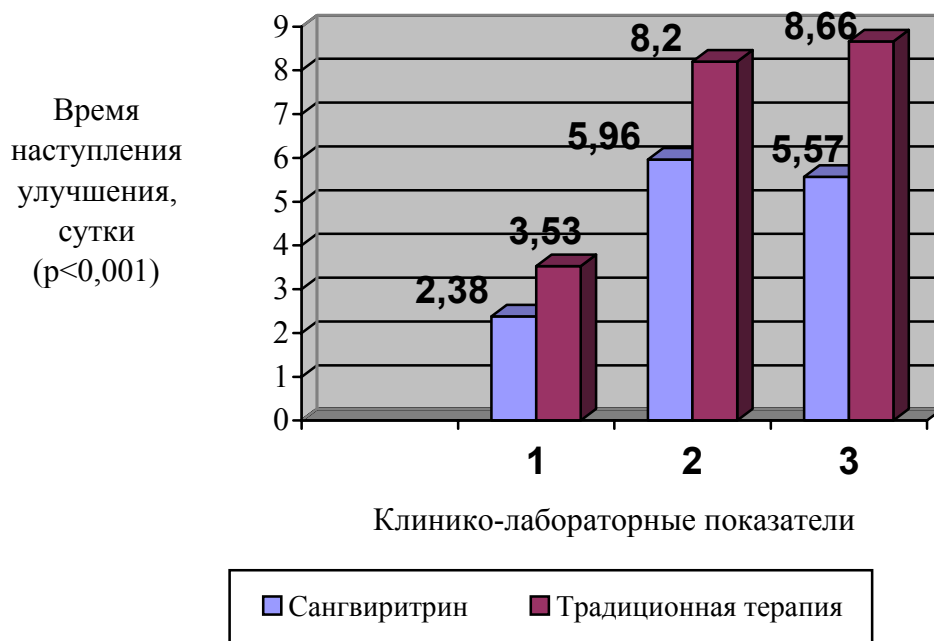
Клинические учреждения, г. Москва	Нозологические формы заболеваний	Взрослые (число больных, возраст)	Дети (÷èñëî áíëüíüð, возраст)
Кафедра инфекционных болезней РМАПО	Острые кишечные инфекции (пищевые токсикоинфекции, дизентерия, сальмонеллез). Бактерионосительство. Дисбактериоз.	60 15-30 лет	34 1 год - 14 лет
НИИ трансплантологии и искусственных органов МЗ РФ	Реконвалесцентное бактерионосительство и дисбактериоз у хирургических больных с искусственно сниженным иммунитетом	85 34-85 лет	-
Детская клиническая больница №9 им. Г.Н.Сперанского: 2-ЛОР-отделение	Дисбактериоз и реконвалесцентное бактерионосительство у больных детского возраста с гнойно-воспалительными заболеваниями ЛОР-органов	-	110 1 год-15 лет
кишечно-диагностическое отделение	Острые кишечные инфекции у больных детского возраста	-	28 1 год-10 лет
Кафедра кожных болезней Российского Государственного Медицинского Университета	Реконвалесцентное бактерионосительство и дисбактериоз у больных с дерматозами и зоонозной микроспорией	-	49 1,5 года - 15 лет
ВСЕГО - 428 больных, из них:		207	221

Так, у больных с острыми кишечными заболеваниями и дисбактериозом по данным кафедры инфекционных болезней РМАПО (рис.1) наиболее значительный лечебный эффект (нормализация эубиоза кишечника, улучшение картины слизистой оболочки прямой и сиг-

мовидной кишки) под влиянием сангвиритрина выявлен у детей с острой дизентерией, вызванной шигеллой Зонне II типа, при дисбактериозе кишечника, вызванным клебсиеллой и кандидой. При длительном выделении сальмонелл и шигелл после перенесенного сальмонеллеза, острой дизентерии, леченной традиционными средствами применение сангвиритрина приводило к прекращению бактериовыделения у взрослых и детей. При этом особый интерес вызывают данные клиники об эффективности препарата при дисбактериозе больных с длительностью заболевания от 6 месяцев до 5 лет и более. У больных в результате лечения сангвиритрином достигнуто улучшение клинического состояния, купирован диарейный синдром, исчезали боли и вздутие кишечника, наступала нормализация эубиоза кишечника и улучшение состояния слизистой кишечника при ректороманоскопии, показано нормализующее действие на Т-клеточное звено иммунитета. У детей отмечено также достоверное повышение гемоглобина на фоне лечения сангвиритрином и проявление иммуномодулирующего эффекта препарата при дисбактериозе кишечника.

При применении кишечнорастворимых таблеток сангвиритрина у детей с острыми кишечными инфекциями (острый гастроэнтерит инфекционный, острый энтероколит инфекционный, дизентерия Зонне, сальмонеллез) по данным кишечно-диагностического отделения Детской клинической больницы №9 им. Г.Н.Сперанского (рис.2) в 90% случаев установлен стабильный лечебный эффект

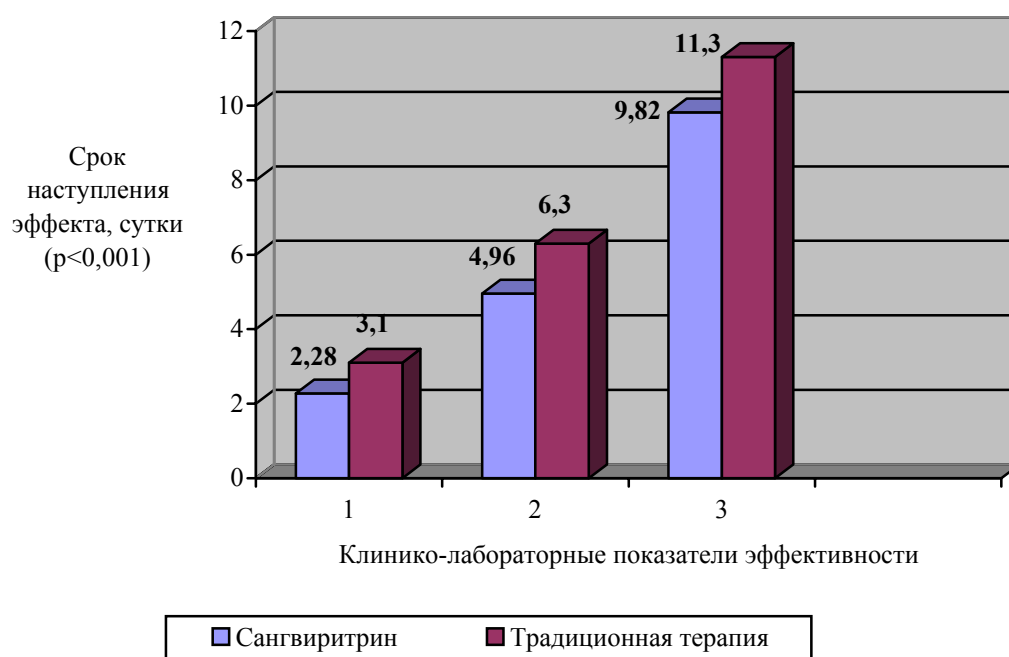
Рис. 1. ЭФФЕКТИВНОСТЬ КИШЕЧНОРАСТВОРИМЫХ ТАБЛЕТОК
САНГВИРИТРИНА У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМИ КИШЕЧНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ И
ДИСБАКТЕРИОЗОМ
(Кафедра инфекционных болезней РМАПО)



Примечание: 1- улучшение клинического состояния у детей (нормализация t^0 , купирование диареи); 2 - исчезновение воспалительных изменений и эрозий на слизистой толстого кишечника (по данным RRS); 3 - отсутствие признаков дисбактериоза по клинической картине и бактериальному анализу.

(исчезновение рвоты, болей в животе нормализация стула). Авторы исследования отмечают, что в более тяжелых случаях заболевания острыми кишечными инфекциями сангвиритрин при необходимости можно успешно сочетать с ферментной и антибактериальной терапией, что является также положительным фактором.

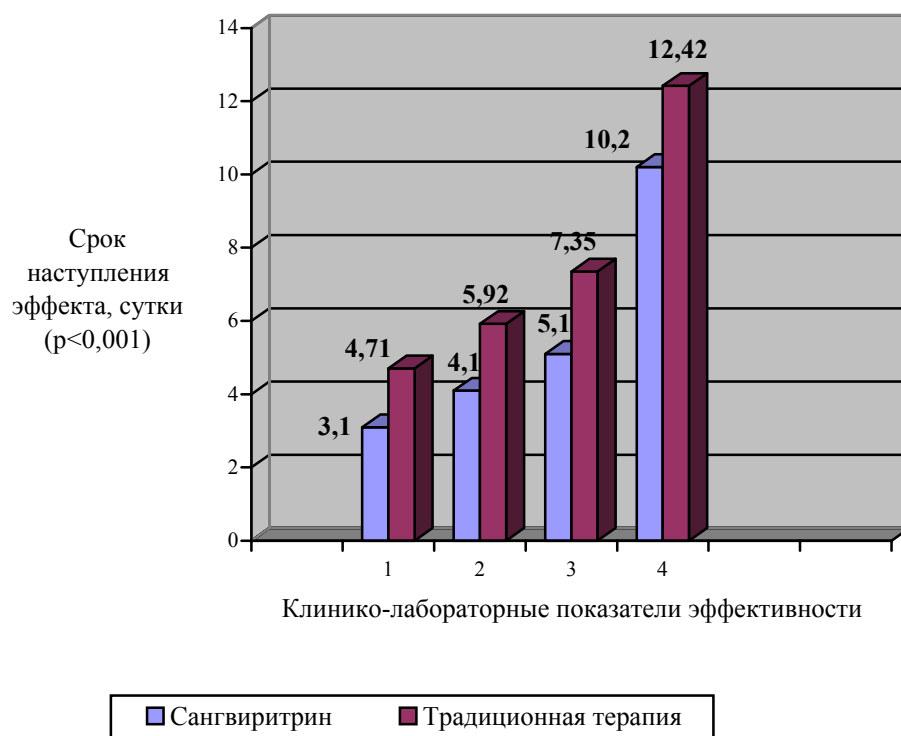
Рис.2. ЭФФЕКТИВНОСТЬ КИШЕЧНОРАСТВОРИМЫХ ТАБЛЕТОК САНГВИРИТРИНА ПРИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ У ДЕТЕЙ
(Кишечно-диагностическое отделение ДГКБ №9 им. Сперанского)



Примечание: 1 - прекращение рвоты; 2 - исчезновение болей, нормализация t^0 ; 3 - нормализация стула.

В хирургии (по данным НИИ трансплантологии и искусственных органов МЗ РФ), показана эффективность кишечнорастворимых таблеток сангвиритрина в качестве общерезорбтивного антимикробного средства, препятствующего развитию реконвалесцентного бактерионосительства у послеоперационных кардиохирургических больных с искусственно сниженным иммунитетом (больные группы риска), и оказывающего лечебное действие при инфекционных гнойно-воспалительных осложнениях (дисбактериоз, реконвалесцентное бактериовыделение и др.), протекающих на фоне длительной и малоэффективной антибиотикотерапии (плохое заживление раны, ОРЗ, лихорадка, дисбактериоз и др.). У хирургических больных с ЛОР-патологией выявлено (рис. 3, 4,5), что применение кишечнорастворимых таблеток сангвиритрина не только положительно влияет на клиническое течение гнойно-воспалительных заболеваний ЛОР-органов у прооперированных детей, но и способствует нормализации микрофлоры, предупреждает развитие реконвалесцентного бактерионосительства и оказывает нормализующее влияние на микрофлору при дисбактериозах, часто осложняющих течение ЛОР-заболеваний у пациентов детского возраста.

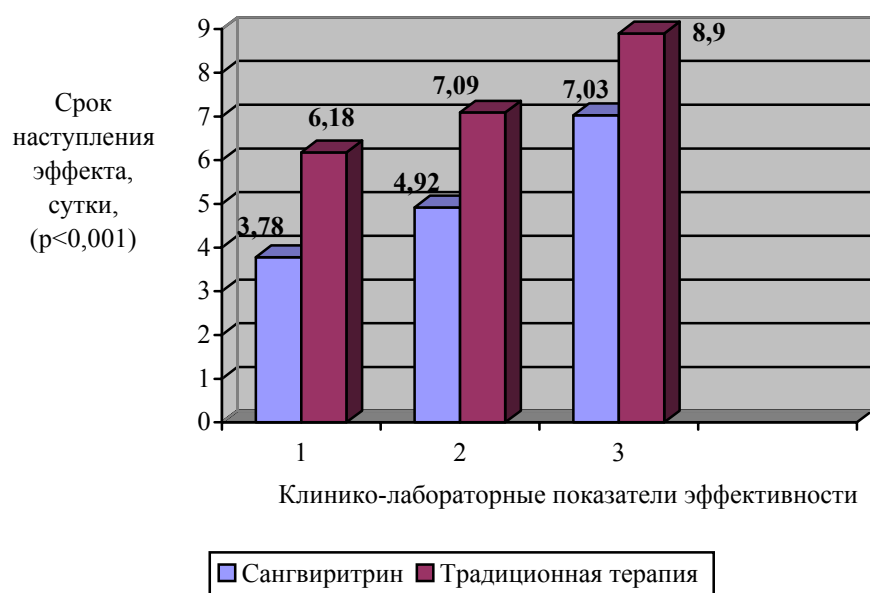
Рис. 3. ЭФФЕКТИВНОСТЬ КИШЕЧНОРАСТВОРИМЫХ ТАБЛЕТОК САНГВИРИТРИНА ПРИ ГНОЙНОМ СРЕДНЕМ ОТИТЕ У ДЕТЕЙ



Примечание: 1 - нормализация температуры; 2- Прекращение выделений из уха, отрицательный бак. анализ; 3 - исчезновение болей в ухе; 4 - отсутствие воспалительных изменений в барабанной перепонке

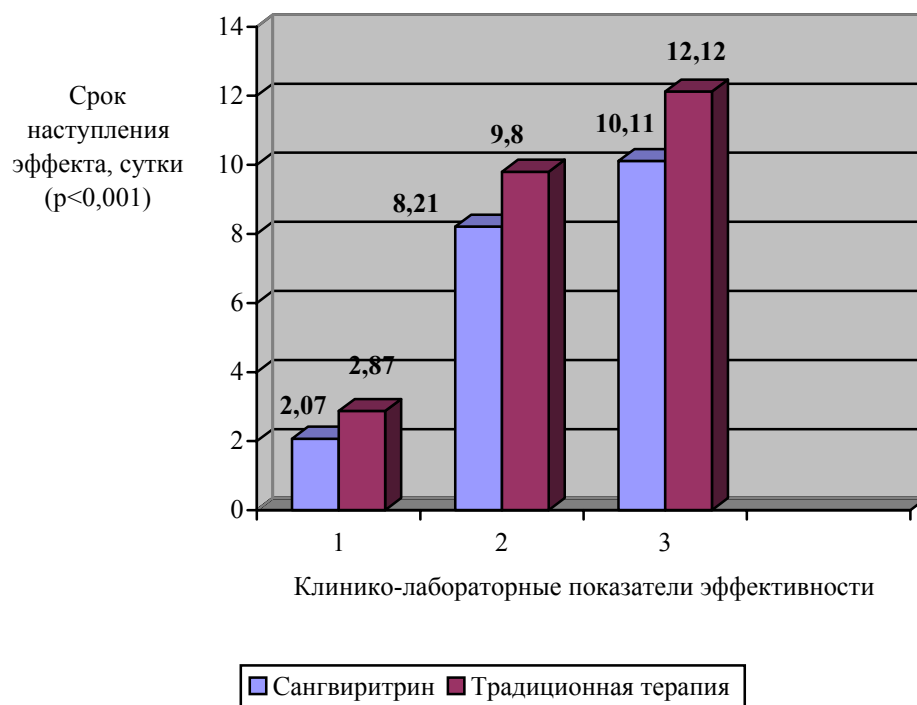
В дерматологии по данным кафедры кожных болезней РГМУ у больных с дерматозами (псориаз, экзема, атопический дерматит и др.), осложненными дисбактериозом и бактерионосительством, при лечении кишечнорастворимыми таблетками сангвиритрина достигнуто (рис.6) не только отчетливое клиническое улучшение (регресс высыпаний, улучшение общего состояния, отсутствие свежих высыпаний), но и нормализация содержания эпидермального стафилококка, дрожжеподобных грибов рода *Candida*, бифидобактерий, *E.coli* со сниженной ферментативной активностью и гемолизирующей *E.coli*. $\Upsilon\delta\delta\alpha\epsilon\delta\epsilon\alpha\acute{\iota}\acute{\iota}\eta\delta\upsilon\ \acute{\iota}\delta\alpha\acute{\iota}\alpha\delta\alpha\delta\alpha\ \acute{\alpha}\ \acute{\alpha}\acute{\alpha}\acute{\iota}\acute{\iota}\epsilon\ \epsilon\acute{\alpha}\epsilon\alpha\delta\eta\delta\alpha\acute{\alpha}\acute{\iota}\acute{\iota}\epsilon\ \delta\acute{\iota}\delta\acute{\iota}\alpha\ \acute{\alpha}\upsilon\epsilon\alpha\ \acute{\iota}\acute{\iota}\epsilon\alpha\varsigma\alpha\acute{\iota}\alpha\ \epsilon\ \acute{\iota}\delta\epsilon\ \acute{\iota}\epsilon\epsilon\delta\acute{\iota}\eta\acute{\iota}\delta\epsilon\epsilon$ (деп.7).

Рис. 4. ЭФФЕКТИВНОСТЬ КИШЕЧНОРАСТВОРИМЫХ ТАБЛЕТОК
САНГВИРИТРИНА ПРИ СИНУИТЕ У ДЕТЕЙ



Примечание: 1 - нормализация t^0 ; 2 - отсутствие гнойного содержимого в пазухах, отрицательный бак.анализ; 3 - прекращение выделений из носа и восстановление носового дыхания.

Рис.5. ЭФФЕКТИВНОСТЬ КИШЕЧНОРАСТВОРИМЫХ ТАБЛЕТОК САНГВИРИТРИНА ПРИ ФАРИНГОМИКОЗЕ У ДЕТЕЙ



Примечание: 1 - нормализация t^0 ; 2 - исчезновение отека и разрыхленности ткани небных миндалин; 3 - отсутствие наложений на миндалинах, отрицательный бак.анализ.

Рис. 6. ЭФФЕКТИВНОСТЬ КИШЕЧНОРАСТВОРИМЫХ ТАБЛЕТОК

САНГВИРИТРИНА ПРИ ДЕРМАТОЗАХ У ДЕТЕЙ

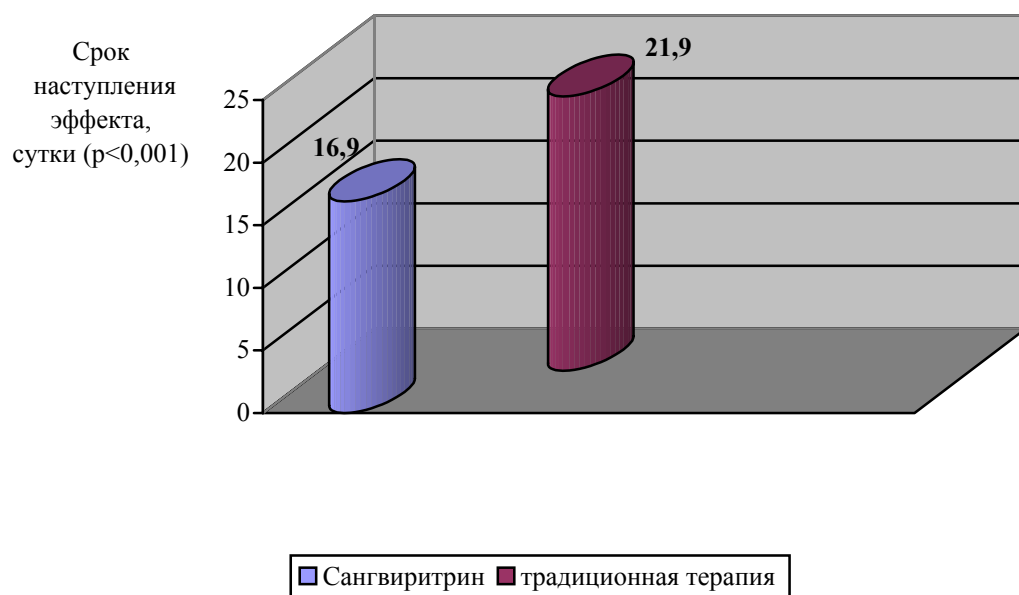
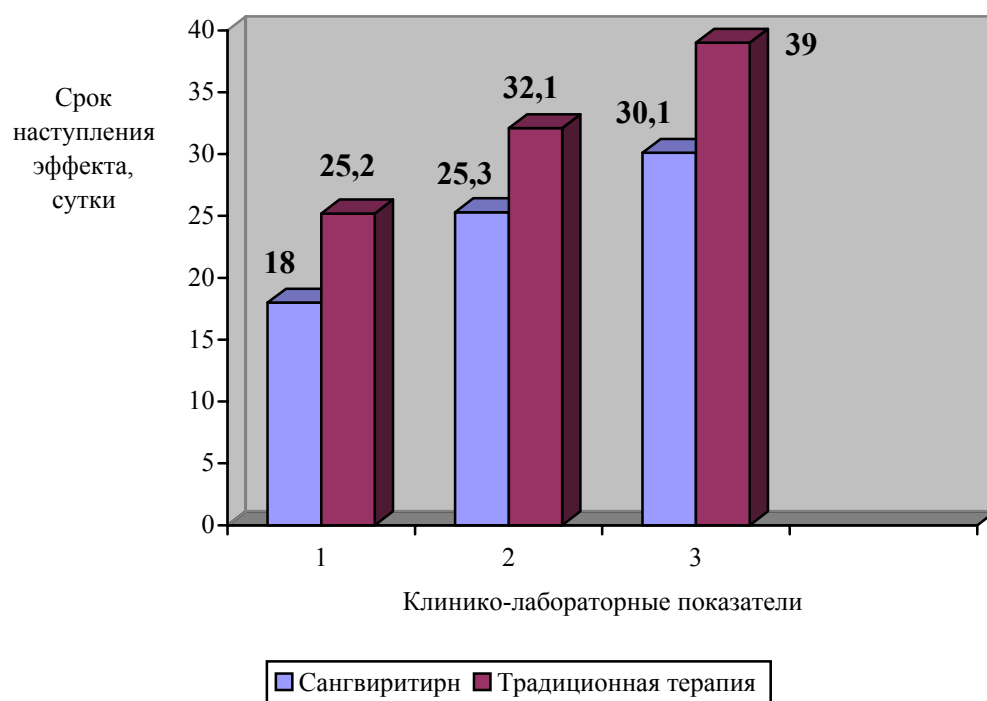


Рис. 7. ЭФФЕКТИВНОСТЬ КИШЕЧНОРАСТВОРИМЫХ ТАБЛЕТОК САНГВИРИТРИНА ПРИ ЗООНОЗНОЙ МИКРОСПОРИИ У ДЕТЕЙ



Примечание: 1 - Разрешение эритемы; 2 - Первый отрицательный бак.анализ на грибы; 3 - Полный регресс кожных проявлений

Таблетки сангвиритрина в кишечнорастворимой оболочке рекомендованы Фармакологическим Государственным комитетом к применению в медицинской практике при дисбактериозе и острых кишечных инфекциях (острая дизентерия, сальмонеллез, пищевые токсикоинфекции), а также реконвалесцентном бактерионосительстве у взрослых и детей в качестве антимикробного средства общерезорбтивного действия.

Преимуществами препарата, по мнению клиницистов, наряду с хорошей переносимостью и отсутствием побочных эффектов, является его высокая эффективность при лечении различных гнойно-воспалительных процессов, обусловленных патогенной микрофлорой, в том числе антибиотикорезистентной, реконвалесцентного бактерионосительства, осложнений, связанных с нарушением нормальной микрофлоры (дисбактериозы), а также (с учетом его механизма действия) возможность применения, в случае необходимости, в сочетании с антибиотиками.

Учитывая все преимущества сангвиритрина, а именно высокую терапевтическую эффективность, действие на лекарственнорезистентные микробы, хорошую переносимость, а также тот факт, что наряду с действием на болезнетворные агенты, он не влияет на нормальную микрофлору человека, можно говорить о том, что сангвиритрин является препаратом нового поколения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Быков В.А., Вичканова С.А., Глызин В.И., Климахин Г.И. Эффективность применения и перспектива разработок лекарственных препаратов на основе сангвиритрина // III Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». - Тез. докл. - М. - 1996. - с.12.
2. Быков В.А., Вичканова С.А., Шипулина Л.Д., Адгина В.В. Антимикробные и противовирусные средства из растительного сырья, особенности и перспективы применения в медицинской практике // I Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». - Тез. докл. - М. - 1992. - с.285.
3. Быков А.С., Вичканова С.А., Селезнев А.С., Фатеева Т.В., Пашков Е.П. Электронно-микроскопическое изучение действия сангвиритрина на микроорганизмы в опытах *in vitro*. // Антибиотики. - 1983. - №6. - с.421-424.
4. Вичканова С.А. Изыскание новых химиотерапевтических средств из высших растений // *Herba pol.* - 1970. - 16.-3.-с. 301-308.
5. Вичканова С.А. Перспективы поисков новых химиотерапевтических препаратов из высших растений // Материалы Всесоюз. научн. конф. по фармакол. и клин. изучению лекарственных препаратов из растений. - М. - 1972. - с.194-203.

6. Вичканова С.А. Итоги и перспективы работ Всесоюзного научно-исследовательского института лекарственных растений по изысканию новых химиотерапевтических свойств растительного происхождения. //Фитонциды.- Киев.- 1975.- с. 89-93
7. Вичканова С.А. Ингибиторы микроорганизмов среди природных веществ растительного происхождения / Дисс. Докт.- М.- 1981. // Автореферат дисс. Докт.-М.- 1981.- 48 стр.
8. Вичканова С.А. Перспективы поиска микробных ингибиторов среди природных веществ из высших растений. //Сборник научных трудов ВИЛР «Состояние и перспективы исследований биологически активных веществ из растений и создание на их основе новых лекарственных препаратов».- М.-1983.- с.107-118.
9. Вичканова С.А., Адгина В.В. Антифунгальные свойства сангвинарина. //Антибиотики.-1971.- №7.-с. 609-612.
10. Вичканова С.А., Адгина В.В., Погорельская Л.В., Крутикова Н.М., Фатеева Т.В., Колхир В.К. Перспективы применения кишечнорастворимой лекарственной формы антимикробного растительного препарата сангвиритрина // II Российский национальный конгресс «Человек и лекарство».- Тез. докл.- М.- 1995.- с.232.
11. Вичканова С.А., Крутикова Н.М., Погорельская Л.В., Габриэлян Н.И., Хамаганова И.В., Пекли Ф.Ф., Курохтина И.С., Зверева И.А. Сангвиритрин при лечении и профилактике инфекционно-воспалительных заболеваний // V Российский национальный конгресс «Человек и лекарство».- Тез. докл.- М.- 1998, 21-25 апреля.- с.356.
12. Вичканова С.А., Погорельская Л.В., Зверева И.А., Ноева М.А., Курохтина И.С. Эффективность лечения дизентерии и других острых кишечных инфекций сангвиритрином. // IV Российский национальный конгресс «Человек и лекарство».- Тез. докл.- М.- 1997, 8-12 апреля.- с.190.
13. Вичканова С.А., Ростоцкий Б.К. с соавт. «Лекарственное средство». А.с. №230387 – (СССР) – Изобретения.-1968.- №34.
14. Вичканова С.А., Рубинчик М.А., Федорченко Т.С. Антимикробные препараты растительного происхождения. //Фитонциды в народном хозяйстве.- Киев.- 1964.- с.228-231.
15. Вичканова С.А., Толкачев О.Н., Мартынова Р.Г., Арзамасцев Е.В. Сангвиритрин – новый лекарственный растительный препарат антимикробного действия. // Химико-фармацевтический журнал.- 1982.- Т.16 (12).- с. 107-112.
16. Вичканова С.А., Фатеева Т.В., Пономарева Л.П., Прилепская В.Н., Габриэлян Н.И., Чубарова А.В. Опыт применения растительного антимикробного препарата «Сангвиритрин» у новорожденных, детей раннего возраста, беременных женщин, а также в кардиохирургии. //Материалы первого международного научного конгресса «Традиционная медицина и питание: теоретические и практические аспекты».- М.- 26-29 июля 1994.- с.146.

17. Зайцев Г.П. Применение сангвинарина у больных с гнойными ранами и трофическими язвами. /Лекарственные растения.- Т. 14. // Фармакология и химиотерапия.- М.- Колос.- 1971.- с. 261-262.
18. Касатикова Р.Е. Лечение сангвинарином кольпитов и эрозий шейки матки. / Лекарственные растения.- Т. 14. // Фармакология и химиотерапия.- М.- Колос.- 1971.- с. 262-264.
19. Кунельская В.Я. О применении сангвинарина при грибковых заболеваниях уха. // Ж. Ушных, носовых и горловых болезней.- 1969.- 5.- с. 101-103.
20. Кунельская В.Я. Применение препарата сангвинарина при лечении хронических средних и наружных отитов. /Лекарственные растения.- Т. 14. // Фармакология и химиотерапия.- М.- Колос.- 1971. – с. 266-269.
21. Погорельская Л.В., Вичканова С.А., Бунов С.В. Перспективы применения фитопрепарата сангвиритрин для лечения острых кишечных инфекций./ Практическая фитотерапия.- 22-23 июня 2000 г.- Москва, №2, с.50-52.

VICHKANOVA S.A., KOLKHIR V.K., KRUTIKOVA N.M., ADGINA V.V., FATEEVA T.V.,
SOKOLSCAIA T.A.

ALL-Russian scientific-research institute of medicinal and aromatic plants, Moscow, Russian.
**SANGVIRITRIN IS THE REPRESENTATIVE OF NEW GENERATION OF DRUGS OF
AN ANTIMICROBIAL OPERATION.**

The Sangviritrin - drug from plants of a sort *Macleya*, is the representative of new generation of drugs of an antimicrobial operation: the tablets of Sangviritrin, freely soluble in an intestine, are safe, highly are effective, are recommended for application into medical practice at dysbacterioses, acute intestinal infections (acute dysentery, salmonellosis, food toxoinfections) and carriage of bacteria during convalescence at children and adults.

БАГИНСКАЯ А.И., КОЛХИР В.К., ГОРОДНЮК Т.И.

ВИЛАР, Москва, Россия

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТАНАЦЕХОЛА НА НЕКОТОРЫЕ ПАРАМЕТРЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС

Танацехол –очищенный сухой экстракт из соцветий пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.) семейства сложноцветных (*Asteraceae*). Танацехол представляет собой аморфный порошок со специфическим запахом. Основными компонентами препарата являются флавоноиды: апигенин, лютеолин, хризозеин, диосметин, кверцетин, изорамнетин, цинарозид, а также фенолкарбоновые кислоты: кофейная, хлорогеновая и изохлорогеновая.

Влияние танацехола на внешнесекреторную функцию печени изучали на белых крысах массой 180-200 г. [9]. Во всех часовых порциях желчи определяли концентрацию желчных кислот [7], холестерина [3], билирубина [8]. Холеспазмолитическое действие танацехола изу-

чали на морских свинках [11]. Токсический гепатит у крыс вызывали подкожным введением четыреххлористого углерода [1, 2, 4, 5]. Функциональное состояние печени животных оценивали на 3, 7, 14 и 21 день от начала введения четыреххлористого углерода. В сыворотке крови крыс с использованием биохимического анализатора FP-9 определяли активность щелочной фосфатазы, аспартат- и аланинаминотрансфераз (АСАТ и АЛАТ), гамма-глутамилтрансферазы (γ -ГТР), концентрацию общего холестерина, триглицеридов, содержание билирубина. О состоянии перекисного окисления липидов судили по содержанию в гомогенате диеновых конъюгатов и малонового диальдегида [12].

Исследования показали, что танацехол обладает выраженным желчегонным действием (табл.1). При введении танацехола в дозе 50мг/кг желчегонный эффект отмечался в течение трех часов. Увеличение дозы танацехола до 100 мг/кг увеличивало секрецию желчи до 80,9% ($P<0,01$) в первый час и на 76,2% ($P<0,05$) – во второй час. Общее количество желчи, выделившейся за четыре часа опыта, увеличивалось на 60,5%. Препарат сравнения – фламин, по влиянию на интенсивность желчеотделения значительно уступал танацехолу. Изучение химического состава желчи у животных интактной (контрольной) группы показало, что концентрация желчных кислот с течением времени имела тенденцию к уменьшению, а концентрация холестерина и билирубина существенно не изменялась. Под влиянием танацехола концентрация желчных кислот увеличивалась в первый час на 43,2% ($P<0,02$), во второй - на 40,9% ($P<0,02$), в третий - на 22,7%, по сравнению с исходным фоном. Концентрация холестерина в желчи не изменялась, а билирубина - слабо повышалась.

Таблица 1.

Влияние танацехола на интенсивность секреции желчи у крыс ($M \pm m$, $n=10$)

Группы животных, препарат, доза (мг/кг)	Интенсивность секреции желчи (мг/час/100г)					Общее количество желчи за 4 часа (мг/100г)	Желчегонный эффект в процентах к контролю
	Исходный фон	После введения препаратов (час)					
		1	2	3	4		
Контроль (интактные крысы)	0,20±0,02	0,22±0,02	0,19±0,03	0,20±0,02	0,20±0,08	0,81±0,08	
Танацехол, 50,0	0,23±0,02	0,43±0,01**	0,34±0,01**	0,34±0,03**	0,30±0,04	1,41±0,10**	74,1
Танацехол, 100,0	0,21±0,03	0,38±0,01**	0,37±0,05*	0,28±0,03	0,27±0,02	1,31±0,11*	60,5
Фламин, 100,0	0,22±0,02	0,32±0,03**	0,31±0,03*	0,30±0,03	0,24±0,02	1,17±0,1*	38,3

* - $p<0,05$; ** - $p<0,01$ по сравнению с контролем

Об эффективности танацехола свидетельствовали изменения общего содержания основных ингредиентов желчи - желчных кислот, холестерина и билирубина (табл.2). Так, у интактных крыс общее количество желчных кислот, выделившихся с желчью в течение трех часов наблюдения, имело тенденцию к уменьшению. Содержание холестерина и билирубина существенно не изменялось, холато-холестериновый коэффициент равнялся 15,4. Введение танацехола вызывало увеличение общего содержания желчных кислот соответственно в 2,7, 2,1 и 1,8 раза по сравнению с исходным фоном. Наряду с этим, наблюдалось увеличение выделения холестерина с желчью: в первый час - на 116% ($P<0,001$), во второй час - на 50% ($P<0,01$) и в третий час - на 48,2% ($P<0,002$). Несмотря на усиление экскреции холестерина, происходило увеличение на 43,9% по сравнению с исходным фоном, холато-холестеринового коэффициента - показателя функционального состояния печени и стабильности желчи. Под влиянием танацехола увеличивалось также и содержание билирубина в желчи крыс.

Таблица 2.

Влияние танацехола на выделение желчных кислот, холестерина и билирубина с желчью у крыс ($M\pm m$, $n=10$)

Группы животных, препарат, доза (мг/кг)	Общее количество основных ингредиентов желчи (мг/кг)			
	Исходное	После введения через (часы)		
		1	2	3
Желчные кислоты				
Контроль	8,40±0,62	9,42±0,73	7,81±0,51	7,72±0,47
Танацехол, 100	10,11±1,79	27,01±2,12***	21,1±3,92***	18,31±1,93***
Фламин, 100	9,12±0,72	14,85±2,12*	13,82±2,02*	10,22±0,08
Холестерин				
Контроль	0,58±0,58	0,55±0,44	0,53±0,45	0,52±0,06
Танацехол, 100	0,56±0,03	1,22±0,20***	0,84±0,04**	0,83±0,08***
Фламин, 100	0,49±0,08	0,53±0,05	0,58±0,07	0,63±0,04
Билирубин				
Контроль	0,22±0,06	0,25±0,01	0,23±0,02	0,20±0,01
Танацехол, 100	0,23±0,04	0,44±0,03**	0,37±0,05*	0,38±0,03
Фламин, 100	0,24±0,04	0,32±0,02	0,29±0,03	0,21±0,01

* - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$ по сравнению с контролем

В экспериментах на морских свинках исследовали характер влияния танацехола на тонус не спазмированных желчевыводящих путей и в условиях спазма желчного пузыря, вызываемого введением хлорида бария. Показателем состояния мышечного тонуса желчевыводящих путей служила скорость оттока перфузируемого раствора Тироде. Установлено, что танацехол в дозе 50мг/кг увеличивал отток жидкости на 28,6% по сравнению с исходным фоном и устранял спазм желчного пузыря, вызываемого хлоридом бария, что свидетельствует о спазмолитической активности препарата.

Экспериментальный гепатит у крыс вызывали по методу [8] путем четырехкратного введения четыреххлористого углерода. Танацехол в дозе 100 мг/кг вводили животным один раз в день, в течение трех недель. Функциональное состояние печени животных оценивали на 3, 7, 14 и 21 дни опыта. Результаты экспериментов иллюстрирует таблица 3. У крыс контрольной группы под влиянием четыреххлористого углерода в течение эксперимента наблюдалось значительное, статистически значимое, повышение активности АЛАТ.

Таблица 3.

Влияние танацехола на активность аминотрансфераз и щелочной фосфатазы в сыворотке крови крыс с тетрахлорметановым гепатитом ($M \pm m$, $n=10$)

Группы	Активность ферментов (МЕ/л)				
животных,	Дни исследования				
препарат, доза (мг/кг)	Исходный фон	3	7	14	21
Аланинаминотрансфераза					
Контроль	48 \pm 3	279 \pm 26	221 \pm 31	162 \pm 37	49 \pm 8
Танацехол, 100	51 \pm 2	112 \pm 22**	108 \pm 87*	90 \pm 4	48 \pm 4
Карсил, 100	50 \pm 3	169 \pm 16*	98 \pm 12*	102 \pm 6*	49 \pm 4
Аспартатаминотрансфераза					
Контроль	183 \pm 7	272 \pm 22	234 \pm 22	225 \pm 18	236 \pm 21
Танацехол, 100	174 \pm 5	218 \pm 11*	153 \pm 20**	183 \pm 16	190 \pm 18
Карсил, 100	190 \pm 10	204 \pm 13*	248 \pm 20	239 \pm 22	192 \pm 19
Щелочная фосфатаза					
Контроль	360 \pm 17	552 \pm 41	480 \pm 38	392 \pm 2	371 \pm 22

Танацехол, 100	345 \pm 20	486 \pm 33	420 \pm 21	356 \pm 21	361 \pm 29
Карсил, 100	382 \pm 21	499 \pm 39	441 \pm 39	378 \pm 30	390 \pm 22
Гамма-глутаматтрансфераза					
Контроль	4,61 \pm 0,91	17,84 \pm 1,61	24,83 \pm 1,62	8,14 \pm 0,94	9,52 \pm 0,62
Танацехол, 100	5,21 \pm 0,58	7,44 \pm 0,74**	6,73 \pm 0,84**	6,38 \pm 0,55	7,02 \pm 0,38
Карсил, 100	4,12 \pm 0,41	10,54 \pm 0,56	13,35 \pm 1,12** *	9,79 \pm 0,88	7,11 \pm 0,91

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ по сравнению с контролем

Активность АСАТ возрастала меньше. Уровень активности гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) в те же сроки наблюдения у контрольных крыс повышался соответственно на 288% ($P < 0,02$), на 440% ($P < 0,01$) и на 70%. Активность щелочной фосфатазы повышалась на третий день исследования на 53,3% ($P < 0,01$), на седьмой день - на 33,4% по сравнению с интактными крысами. Под влиянием танацехола подъем активности АЛАТ, АСАТ, щелочной фосфатазы и γ -ГТР во все сроки исследования был менее выражен, чем у контрольных крыс. Так, уровень активности АЛАТ в сыворотке крови крыс на третий, седьмой, четырнадцатый дни исследования был ниже, чем в контроле: на 59,8% ($P < 0,01$), на 51% ($P < 0,05$) и на 44,3% соответственно, а активность АСАТ - на 19,8% ($P < 0,05$), на 34,3% ($P < 0,01$) и на 18,8%, активность γ -ГТР - на 58,3% ($P < 0,001$) и на 72,9% ($P < 0,02$), а активность щелочной фосфатазы имела тенденцию к снижению во все сроки наблюдения. В группе крыс, получавших карсил (гепатопротектор, препарат сравнения), отмечалась тенденция к снижению активности щелочной фосфатазы и АСАТ. Более выражено карсил уменьшал активность АЛАТ и γ -ГТР.

Влияние танацехола на перекисное окисление липидов (ПОЛ) проводили в опытах *in vitro*. Процессы ПОЛ в гомогенате печени инициировали аскорбатом железа. Скорость ПОЛ определяли по количеству образовавшегося малонового диальдегида (МДА) в условиях спонтанного ПОЛ, т.е. не индуцированного аскорбатом железа, в условиях ПОЛ, индуцированного аскорбатом железа, и в условиях ПОЛ, индуцированного аскорбатом железа с добавлением в образцы гомогената танацехола в разных концентрациях. При спонтанном ПОЛ концентрация МДА в гомогенате печени интактных крыс составляла $78,2 \pm 5,7$ мкмоль/г. В условиях стимуляции ПОЛ аскорбатом железа концентрация малонового диальдегида увеличивалась в 2,8 раза ($P < 0,001$, табл.4). Добавление танацехола в образцы гомогената печени, обработанные аскорбатом железа, уменьшало содержание в них МДА. При концентрациях

танацехола 0,2 и 1,0 мг/г печени уровень МДА снижался на 32,4% ($P<0,02$) по сравнению с контролем, а при концентрации 10мг/г - на 55% ($P<0,001$). Карсил в тех же дозах (0,2 и 1,0мг/г) снижал содержание МДА, по сравнению с контролем, на 35,4% ($P<0,001$) и на 47,1% ($P<0,001$) соответственно. Таким образом, в условиях опытов *in vitro* танацехол и карсил тормозили процессы ПОЛ, проявляя антиоксидантную активность.

Таблица 4.

Влияние танацехола на содержание малонового диальдегида (МДА)
в гомогенате печени крыс в опытах *in vitro* ($M\pm m$, $n=8$)

Условия опыта, препарат, доза (мг/кг)		Содержание МДА (мкмоль/г)
Спонтанное окисление		78,2 \pm 5,7
Контроль (аскорбат железа)		221,7 \pm 12,4
Танацехол	0,2	150,0 \pm 14,3*
	1,0	150,4 \pm 14,8*
	10,0	97,8 \pm 5,9*
Карсил	0,2	143,4 \pm 13,6*
	1,0	117,3 \pm 12,4*

* - $p<0,05$ по сравнению с контролем

Влияние танацехола на ПОЛ в опытах *in vivo* изучали в условиях токсического тетрахлорметанового гепатита у крыс. Установлено, что введение четыреххлористого углерода вызывало увеличение продуктов ПОЛ, наиболее выраженное в первые трое суток (табл. 5). Так, на третий день исследования содержание диеновых конъюгатов (ДК) в печени крыс контрольной группы увеличивалось, по сравнению с интактными, на 112% ($P<0,001$), содержание МДА - на 102% ($P<0,001$). У животных, получавших танацехол, уровень МДА снижался, по сравнению с контролем, на первый, третий и седьмой дни исследования на 40,2% ($P<0,01$), 15,0 и 19,2% ($P<0,002$), а ДК - на 26,3% ($P<0,01$), 27,1% ($P<0,01$), 19,4% соответственно. Карсил также приводил к отчетливому торможению процессов ПОЛ, о чем свидетельствуют более низкие, по сравнению с контролем, показатели МДА. По уровню антиоксидантной активности оба препарата существенно не отличались друг от друга.

Таблица 5.

Влияние танацехола на индуцированное четыреххлористым углеродом
перекисное окисление липидов (ПОЛ) в печени крыс ($M \pm m$, $n=10$)

Группы животных, препарат, доза (мг/кг)	Содержание продуктов ПОЛ в гомогенате печени							
	Диеновые конъюгаты (ммоль/г)				Малоновый диальдегид (мкмоль/г)			
	Дни исследования							
	1	3	7	14	1	3	7	14
Контроль	1,082± 0,074	1,123± 0,091	0,806± 0,065	0,572± 0,076	136,3± 15,6	138,1± 4,7	91,9± 1,3	78,2± 4,6
Танацехол, 50,0	0,798± 0,037**	0,819± 0,013**	0,650± 0,042	0,546± 0,039	81,5± 3,3**	117,4± 10,4	74,3± 4,7**	84,1± 2,6
Карсил, 50,0	0,754± 0,47**	0,878± 0,052*	0,845± 0,053	0,551± 0,04	130,1± 18,3	157,8± 14,9	76,3± 3,9*	78,2± 5,9
Интактная	0,523±0,028				68,5±3,3			

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ по сравнению с контролем

Таким образом, проведенные исследования влияния танацехола на некоторые параметры функционального состояния гепатобилиарной системы крыс показали, что препарат обладает выраженной желчегонной, спазмолитической, гепатопротекторной и антиоксидантной активностью.

Танацехол в настоящее время применяется в качестве желчегонного и спазмолитического средства при хронических некалькулезных холециститах, дискинезиях желчных путей. Кроме того, препарат можно рекомендовать как гепатопротекторное средство для улучшения функции печени при гепатитах и циррозе печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блюгер А.Ф. (1975) Основы гепатологии. Рига, 470с.
2. Бондарь З.А. (1970) Клиническая гепатология-407с.
3. Дроговоз С.М. (1971) Вopr.мeд.химии.-Т.17, №4.-С.397-400
4. Кудрин А.Н., Левшин Б.И., Мехтиев И.А. (1982) Фармакотерапия препаратами селена экспериментального гепатита.-Баку, 222с.
5. Левшин Б.И. (1976) Токсический гепатит, его течение и экспериментальная терапия//Механизм повреждения, резистентные адаптации и компенсации.-Ташкент. Т.2

6. Олейник А.Н., Овсянникова Л.М. (1983) Антибиотики.-Т.28,№11.-с.845-848
7. Петровский Ю.А. (1947) Внешняя секреция желчи. Львов
8. Скакун Н.И. (1956) Проблемы эндокринологии и гормонотерапии.-т.2, №5, с. 75-78.
9. Скакун Н.И., Олейник А.Н. (1967) Фармакология и токсикол.-№3, с.334-337.
10. Allaince et al. (1974) Clin. Chem., V.20, P. 476
11. Crema A., Benzig G. et.al. (1966) J. Pharm. A. Pharmacol.-V.17, P. 405-407.
12. Plazer L., Kuzela L. (1968) Acta Biol.-Med. Germ.-Bd. 21, #8, S. 121-124.

Baginskaya A.I., Kolkhir V.K., Gorodnyuk T.I.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

THE INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF TANACECHOL (TANACECHOLUM) ON SOME HEPATO-BILIAR-SYSTEM FUNCTIONAL STATE PARAMETERS.

Tanacecholum (T.) is a purified dry extract of Tanacetum vulgare-floscules. In the experiments on rats T. increased bile-excretion more actives than Flaminum in the same doses and showed anti-hepatotoxic, anti-oxidant properties.

ВИЧКАНОВА С.А., БАГИНСКАЯ А.И., ШИПУЛИНА Л.Д., КОЛХИР В.К.

БОРТНИКОВА В.В., ГОРОДНЮК Т.И.

ВИЛАР, Москва, Россия

ФЛАКОЗИД – ЭФФЕКТИВНОЕ РАСТИТЕЛЬНОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕПАТИТОВ ВИРУСНОЙ И НЕ ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ, А ТАКЖЕ ВИРУСНЫХ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ

Острые и хронические заболевания печени могут вызываться как гепатотропными вирусами (вирусы гепатита А,Б, С, Д, Е и ни А, ни Б), так и различными гепатопатогенными ядами (химические и наркотические вещества, алкоголь, медикаментозные средства и др.). Учитывая тяжесть таких заболеваний и возможный плохой прогноз (цирроз печени и др.), а также недостаточный ассортимент лекарственных средств для их лечения необходимость поиска эффективных лечебных препаратов при данной патологии является актуальной (1).

Флакозид – новый оригинальный отечественный противовирусный препарат, представляющий собой индивидуальный природный флавоноидный гликозид 7-β-D-глюкопиранозид 8 –метилбут-2-енил-4',6,7,-триоксифлавананола (феллавин). Флакозид получают из листьев бархата амурского – *Phellodendron amurense* Rupr. И бархата Лавалея – *Ph. Amurense* var. *lavalleyi* (Dode) Sprague семейства рутовых (Rutaceae) (4).

Экспериментальные исследования показали наличие у флакозида противовирусной активности, стимулирования индукции гамма-интерферона, а также антигепатотоксические свойства.

Противовирусный эффект флакозида изучали на общепринятых моделях с использованием вирусов группы герпеса (9) и вируса гепатита.

Экспериментальные исследования показали, что флакозид обладал высоким вирусингибирующим эффектом в отношении вируса герпеса: в концентрации 10 мкг/мл в клеточной культуре фибробластов куриного эмбриона он подавлял репродукцию *Herpes simplex* при инфицировании от 1 до 1000 ТЦД₅₀. Установлен высокий химиотерапевтический эффект флакозида на модели экспериментального герпетического энцефалита белых мышей в дозах от 20 мг/кг до 500 мг/кг массы животного как при введении *per os*, так и при введении *sub cutis*. Наиболее высокий химиотерапевтический эффект выявлен при лечебно-профилактическом введении флакозида на данной модели 2 раза в сутки в течение 5-7 дней: пероральное или подкожное введение в дозах 500 мг/кг, 250 мг/кг, 100 мг/кг и 20 мг/кг за сутки или в день инфицирования с последующим лечением животных в течение 5-7 дней приводило к повышению выживаемости животных на 10-70% и статистически достоверному удлинению продолжительности их жизни. Установлена зависимость химиотерапевтической эффективности флакозида от длительности и кратности введения препарата: одноразовое применение флакозида не задерживало развитие инфекции; проведение курсового лечения (ежедневное двухразовое введение в течение 5-7 дней) приводило в ряде опытов к полному предупреждению гибели животных и достоверному увеличению продолжительности их жизни. Химиотерапевтический индекс флакозида на модели экспериментального герпетического энцефалита белых мышей составлял от 150 до 30 в зависимости от тяжести инфекционного процесса (от 1 ЛД₃₀ до 10 ЛД₁₀₀). Таким образом, проведенное экспериментальное изучение флакозида свидетельствовало о наличии высокого противовирусного действия препарата, проявляющегося как в клеточной системе, так и в организме лабораторного животного в условиях инфекционного процесса, вызванного вирусами группы герпеса.

Изучение влияния флакозида на вирус гепатита проводили совместно с Институтом микробиологии АН Латвии. В работе использовали культуру клеток AGMK (линия BS-C-1) и адаптированный к ней штамм вируса гепатита А НМ-175. Проведены две серии экспериментов с использованием различных концентраций препарата и времени его внесения по отношению к моменту заражения культур вирусом гепатита А. Флакозид вносили в культуры до заражения их ВГА (вирус гепатита А), одновременно с заражением ВГА и после заражения культуры ВГА. В обеих сериях опытов выявлено, что флакозид подавлял размножение вируса гепатита А в культурах по сравнению с зараженными культурами, необработанными этим

препаратом. При учете результатов методом непрямой иммунофлюоресценции флакозид в концентрации 0,1 мг/мл вызывал ингибирование размножения ВГА на 30-35% при внесении препарата в культуру одновременно с заражением вирусом гепатита А. При учете результатов иммуноферментным методом также установлено, что флакозид ингибировал размножение ВГА в концентрациях 1, 0,5 и 0,1 мг/мл в тех случаях, когда препарат вносили в культуры одновременно с ВГА. Ни в одной из примененных концентраций токсического действия препарата на клетки не наблюдали. Таким образом, было показано возможное противовирусное действие флакозида в отношении вируса гепатита человека.

Экспериментальный гепатит у крыс вызывали гепатогенными агентами – четыреххлористым углеродом (тетрахлорметаном), этиловым спиртом и Д-галактозамином. Данные модели наиболее адекватно отражают основные типы патологии, наблюдающиеся при заболеваниях печени у человека (6, 10, 13). Поражение Д-галактозамином, как известно, вызывает биохимические и гистологические изменения в печени, в частности, развитие центроlobулярных некрозов, сходных с таковыми при вирусном гепатите у человека (7).

Однократное введение флакозида крысам в дозах 50 и 100 мг/кг вызывало изменения в состоянии печени, которые оценивали на 3, 7, 14 и 21 дни эксперимента. Острую алкогольную интоксикацию у крыс вызывали однократным внутрижелудочным введением 33% этилового спирта в дозе 6 г/кг. Флакозид в дозе 100 мг/кг и препарат сравнения «Карсил» вводили животным однократно за 30 минут до введения алкоголя и через 24 часа брали кровь на исследование. Д-галактозамин вводили крысам подкожно, однократно в дозе 300 мг/кг, флакозид - однократно внутрижелудочно в дозе 100 мг/кг за 30 минут до гепатогенного агента. Кровь на исследования брали через 48 часов. Характер влияния флакозида на развитие патологических изменений в печени оценивали с помощью комплекса биохимических, физиологических и патоморфологических методов. В сыворотке крови крыс с использованием биохимического анализатора FP-9 определяли активность щелочной фосфатазы, аспартат- и аланинаминотрансфераз (АСАТ и АЛАТ), гамма-глютамилтрансферазы (ГГТ), концентрацию общего холестерина, триглицеридов, содержание билирубина и глюкозы. О состоянии перекисного окисления липидов судили по содержанию в гомогенате печени диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА). Содержание продуктов ПОЛ рассчитывали по коэффициентам молярной экстинкции: $2,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}$ для ДК и $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}$ для МДА.

На модели тетрахлорметанового гепатита в контрольной группе животных наблюдали значительное повышение активности АЛАТ с максимумом эффекта на 3 сутки развития патологии - 481,6% ($p < 0,01$), на 7 и 14 сутки - на 362% ($p < 0,02$) и 234% ($p < 0,01$), соответственно, по сравнению с интактными крысами. Активность АСАТ у контрольных животных воз-

растала меньше, и на 3, 7 и 14 сутки исследования превышала показатели интактных крыс на 48,9% ($p < 0,01$), 27,7% ($p < 0,02$) и 23,1% ($p < 0,02$). Активность ГГТ в контрольной группе повышалась на 267,8% ($p < 0,02$), на 439,6% ($p < 0,01$) и на 70%, соответственно. Активность щелочной фосфатазы повысилась на третьи сутки исследования на 53,3% ($p < 0,01$), на 7 - на 33,4% по сравнению с интактными животными. К 21 дню эксперимента уровень активности всех ферментов приближался к исходному уровню. Введение флакозида достоверно тормозило нарастание активности АЛАТ на 3, 7 и 14 сутки исследования на 46,3%, 56,8%, 49,6%, соответственно. Достоверное уменьшение АСАТ на 40% ($p < 0,001$) наблюдалось только на 7 сутки. Активность щелочной фосфатазы имела тенденцию к уменьшению во все сроки наблюдения, максимально на 3 сутки исследования на 21,1% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Активность ГГТ уменьшилась на 3 и 7 сутки исследования на 59,7% ($p < 0,05$) и 76,0% ($p < 0,001$), соответственно. В группе крыс, получавших препарат сравнения «Карсил», на 3 и 7 сутки исследования отмечалось достоверное уменьшение активности АЛАТ на 39,3% и 55,6%; ГГТ на 41% и 46,3%, соответственно. Флакозид оказывал выраженное нормализующее действие на содержание альбуминов и гамма-глобулинов: на 3 и 21 дни опыта содержание альбуминов достоверно увеличивалось на 35,1% и 18,6%, а содержание гамма-глобулинов уменьшалось на 20% и 22,3% соответственно. Карсил не оказывал существенного влияния на содержание белковых фракций в сыворотке крови животных. Под влиянием введения флакозида наблюдался значительный гипохолестеринемический эффект, особенно на 14 день исследования (62%, $p < 0,002$), по сравнению с контролем. Выраженная гипотриглицеридемическая активность флакозида проявлялась на 3 и 7 дни наблюдения, когда концентрация триглицеридов была более, чем на 20% меньше, чем в контроле ($p < 0,05$). Карсил оказывал аналогичный эффект на данные показатели. Флакозид предотвращал резкое снижение содержания гликогена в печени крыс. Так, в 1 и 3 сутки исследования уровень гликогена определялся в 1,4 и 3,1 раза выше, чем в контроле. К 14 дню опыта восстановление содержания гликогена в печени до физиологической нормы наблюдалось лишь в данной группе крыс. Уменьшение содержания билирубина в сыворотке крови на 3-й и 7-й дни эксперимента составило 43,5% и 33,65% ($p < 0,01$). Карсил в те же сроки наблюдения снижал уровень общего билирубина на 39% ($p < 0,05$).

На модели острого алкогольного отравления однократное введение этилового спирта вызывало у крыс выраженную гиперлипидемию: концентрация общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови была выше на 87,5% ($p < 0,001$) и 119% ($p < 0,01$), соответственно. Введение флакозида достоверно снижало концентрацию общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови на 3 и 7 сутки исследования на 46,3% и 56,8%, 49,6%, соответственно. Карсил оказывал аналогичный эффект на данные показатели. Флакозид предотвращал резкое снижение содержания гликогена в печени крыс. Так, в 1 и 3 сутки исследования уровень гликогена определялся в 1,4 и 3,1 раза выше, чем в контроле. К 14 дню опыта восстановление содержания гликогена в печени до физиологической нормы наблюдалось лишь в данной группе крыс. Уменьшение содержания билирубина в сыворотке крови на 3-й и 7-й дни эксперимента составило 43,5% и 33,65% ($p < 0,01$). Карсил в те же сроки наблюдения снижал уровень общего билирубина на 39% ($p < 0,05$).

ротке крови было меньше, чем у контрольных крыс на 42,9% и 31,7% ($p < 0,001$) соответственно. Под влиянием флакозида активность цитоплазматических ферментов уменьшалась по сравнению с контрольными животными 33,9% (АЛАТ), на 41,2% (АСАТ) и на 54% (ЩФ, $p < 0,01$). При введении карсила торможение нарастания активности ферментов составило соответственно 35,6% ($p < 0,02$), 23,3% ($p < 0,01$), 36,9% ($p < 0,01$) и наблюдалась тенденция к замедлению увеличения концентрации общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови опытных крыс.

В условиях Д-галактозаминовой модели гепатита у контрольных животных наблюдали значительное увеличение активности цитоплазматических ферментов в сыворотке крови животных (АЛАТ - в 6,6 раза, АСАТ - в 3,9 раза, щелочной фосфатазы - в 1,6 раза, $p < 0,001$) и увеличение концентрации билирубина на 45,4% ($p < 0,001$). Профилактическое введение флакозида тормозило нарастание активности АЛАТ на 47,1%, щелочной фосфатазы на 33,7%, повышение уровня билирубина в сыворотке крови на 34,7% по сравнению с контролем. Карсил тормозил увеличение концентрации билирубина, активности щелочной фосфатазы на 22,8% ($p < 0,05$) и отмечалась тенденция к уменьшению активности АЛАТ. У животных, получавших флакозид, в отличие от контрольных, почти полностью сохранялась балочная структура печеночных долек, признаки нарушения кровообращения и клеточная реакция по ходу портальных трактов были слабо выражены, структура гепатоцитов и их размеры мало изменены, не наблюдалось пикноза и лизиса ядер, количество фигур митоза было значительно больше, чем в контроле.

Влияние флакозида на перекисное окисление липидов (ПОЛ) изучено в условиях *in vitro* и *in vivo*. При спонтанном ПОЛ концентрация МДА в гомогенате печени интактных крыс составляла $78,2 \pm 5,7$ мкмоль/г. В условиях стимуляции ПОЛ аскорбатом железа концентрация МДА увеличивалась в 2,8 раза ($p < 0,001$). Флакозид в концентрации 0,2 мг/г вызывал снижение содержания МДА на 17,6%, а в концентрации 1 мг/г - на 29,5% ($p < 0,001$), карсил в тех же дозах - на 35,4% ($p < 0,001$) и на 47,1% ($p < 0,001$) соответственно. Т.о. в условиях опытов *in vitro* флакозид снижал содержание конечного продукта ПОЛ - малонового диальдегида, в гомогенате печени крыс и, следовательно, тормозил процессы перекисного окисления липидов и проявлял антиоксидантную активность. В опытах *in vivo*, в условиях токсического тетрахлорметанового гепатита у крыс, флакозид так же, как и карсил, ингибировал ПОЛ: снижал содержание ДК, по сравнению с контролем, на 25,6% ($p < 0,01$) и 24,3% ($p < 0,05$) в первый и третий дни эксперимента; содержание МДА в эти же сроки наблюдения уменьшалось более, чем на 19% ($p < 0,01$).

Таким образом, фармакологическое изучение флакозида на 3 экспериментальных моделях патологии печени у крыс показало, что он обладает отчетливым антигепатотоксиче-

ским действием, обусловленным стабилизирующим влиянием на клеточные мембраны. Кроме того, флакозид стимулирует желчеотделение, обладает противовоспалительным, противоязвенным, гипотаземическим, гипогликемическим и некоторым седативным действием (5).

Фармакокинетические исследования флакозида, проведенные на Кафедре органической химии Медицинской академии им. И.М.Сеченова, показали, что флакозид в организме подвергается интенсивному метаболизму. На основе данных физических (ЯМР(C^{13}), ПМР, УФ- и К-спектроскопия) и химических методов установлено, что основным метаболит М-4 представляет собой агликон флакозида. При однократном внутривенном введении флакозида экспериментальным животным в дозе 10 мг/кг наблюдали снижение концентрации препарата в крови в течение 3-3,5 часов. Через 4 часа флакозид определяли в печени, селезенке и почках. При введении *per os* флакозид в плазме крови крыс не обнаруживали, а в печени, почках и селезенке определяли агликон флакозида. В условиях клиники при введении *per os* средней суточной дозы (600 мг) в плазме крови больных корью и добровольцев флакозид обнаруживали в виде трех метаболитов в течение 4 суток. Экскреция флакозида с мочой менее 2% (8).

По показателям токсичности при однократном внутрибрюшинном и внутривенном способах введения лабораторным животным флакозид является малотоксичным веществом: LD_{50} при внутрибрюшинном введении для самцов мышей, крыс, и морских свинок равны соответственно 1020 ± 86 ; 2100 ± 150 ; 500 ± 48 мг/кг. При введении в желудок мышам и крысам LD_{50} составляют соответственно 3020 ± 230 и 12700 ± 950 мг/кг. В условиях подострого эксперимента при введении в желудок крысам в дозе 40 и 400 мг/кг и в условиях хронического эксперимента (3 месяца) при введении крысам в желудок в дозах 20, 100 и 500 мг/кг флакозид не влиял на общее состояние, поведенческие реакции, морфологический состав периферической крови, функциональное состояние печени, почек и сердечно-сосудистой системы. В указанных дозах флакозид усиливал обезвреживающую функцию печени. При макро- и микроскопическом исследовании внутренних органов животных не установлено каких-либо патологических изменений, связанных с токсическим действием флакозида. При исследовании готовой лекарственной флакозида (таблетки 0,1 г) на собаках в дозе 100 мг/кг в условиях хронического эксперимента не выявлено повреждающего действия на основные органы и системы организма, а при патоморфологическом исследовании – каких-либо изменений. Обусловленных токсическим действием препарата. Флакозид не оказывал эмбриотоксических, тератогенных, аллергизирующих, мутагенных и местнораздражающих эффектов. При длительном введении в желудок крысам в дозах 20, 100 и 500 мг/кг флакозид не влиял на иммунологический статус экспериментальных животных (по фагоцитарной активности

лейкоцитов) (2).

Клинические исследования флакозида проводили в два этапа в 20 ведущих клинических учреждениях. Учитывая многообразие биологических свойств флакозида клиническое изучение проводили в нескольких направлениях: при вирусных гепатитах и других вирусных инфекциях, заболеваниях печени невирусной этиологии, а также вирусных заболеваниях кожи. Результаты исследования флакозида на 1717 больных взрослого и детского возраста показали во всех клиниках хорошую переносимость препарата в процессе лечения и эффективность в лечении острых гепатитов (В и А), опоясывающего лишая, ветряной оспы, кори и хронических заболеваний печени и желчевыводящих путей.

Исследования флакозида проводили у больных с вирусным гепатитом А и гепатитом В, а также хроническим гепатитом при обнаружении HBS Ag или вирусного гепатита в анамнезе (3). При среднетяжелых формах гепатита А, сопровождающихся желтухой, флакозид применяли по 0,1 г 3 раза в сутки в течение 14 дней, больным с гепатитом В, подтвержденным в РПГА HBS Ag, применяли флакозид в той же дозе - 28 дней. Во всех случаях гепатит В расценивали как среднетяжелый (выраженная интоксикация, желтуха, гепатоспленомегалия, высокая цитолитическая активность). Больные с хроническим гепатитом (активный, персистирующий) получали флакозид по 0,1 г 3 раза в сутки – 38 дней. Терапевтический эффект флакозида у больных гепатитом А выражался в уменьшении интоксикации, цитолиза гепатоцитов. Применение флакозида у больных с острым гепатитом В приводило к снижению титра австралийского антигена к 12-18 дню, наблюдалось существенное сокращение сроков антигенемии (30-36 дней, контроль – 48-54 дня) и ускорение реконвалесценции больных.

В качестве антигепатотоксического средства при заболеваниях печени неинфекционной этиологии флакозид применяли внутрь по 0,3-0,6 г в сутки в течение 25-45 дней. При хронических гепатитах и циррозах печени различной этиологии, неконъюгированной гипербилирубинемии и жировой дистрофии печени применение флакозида приводило к уменьшению боли в правом подреберье, снижению диспептических расстройств, уменьшению явлений астении, повышению физической и интеллектуальной работоспособности, улучшению аппетита. Клиницистами отмечено, что курс лечения флакозидом оказывал стабилизирующее влияние на клеточную мембрану гепатоцита, благотворно влиял на двигательную функцию желчного пузыря и тонус сфинктерного аппарата желчных путей, способствовал уменьшению холестаза, нормализовал биохимический состав желчи. По клинико-биохимическим и клинико-инструментальным показателям флакозид не уступал силибору, а в части из них, значительно превосходил его. Установлена высокая эффективность флакозида при вирусных дерматозах, ветряной оспе и кори. Флакозид у больных простым рецидиви-

рующим герпесом различной локализации обеспечивал значительное улучшение течения герпетического процесса, в 2 раза и более сокращал длительность рецидивов. Терапевтический эффект флакозида при данной патологии превосходил эффект препаратов сравнения. При простом и опоясывающем герпесе лечение флакозидом приводило к уменьшению воспалительных явлений, отека, гиперемии, ускорению эпителизации эрозий. Терапевтический эффект флакозида превосходил эффект препарата сравнения «Бонафтон».

На основании установленной при клинических исследованиях эффективности и хорошей переносимости флакозид был разрешен к медицинскому применению у взрослых и детей в качестве противовирусного и антигепатотоксического средства. Как противовирусное средство флакозид применяют при острых вирусных гепатитах А и В, первичных и рецидивирующих формах простого герпеса экстрагенитальной и генитальной локализации, опоясывающем лишае, ветряной оспе и кори. Как антигепатотоксическое средство флакозид назначают при хронических диффузных заболеваниях печени и дискинезии желчевыводящих путей.

Преимуществами отечественного растительного препарата «Флакозид» являются его хорошая переносимость и высокая эффективность при вирусных заболеваниях, в том числе при гепатите В, у детей и взрослых, а также благоприятное сочетание противовирусного действия, интерферониндуцирующих и антигепатотоксических свойств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блюгер А.Ф., Майорс А.Я. Исследование основных патогенетических линий поражения клеток печени в условиях клинической и экспериментальной патологии и подходы к регуляции и купированию этих процессов. // Успехи гепатологии.-Рига, 1982.-Вып.10.-с.1234.
2. Бортникова В.В. Сравнительная токсикологическая характеристика и новые фармакологические свойства антимикробных и противовирусных препаратов растительного происхождения. // Автореферат дисс. ... канд. биол. наук, Купавна, 1988 г., 21 С.
3. Вичканова С.А., Турьянов М.Х., Алятин Ю.С. Клинические исследования флакозида при вирусных гепатитах А и В. // Тез. докл. IV Российского национального конгресса «Человек и лекарство».- Москва.-8-12 апреля 1997 г., С.190.
4. Глызин В.И., Отряшенкова В.Э., Вичканова С.А., Шипулина Л.Д. Способ получения феллавина. // Авторское свид. №686345 с приор. изобр. 28 апреля 1978 г. Гос. реестре изобр. СССР 21 мая 1979 г.
5. Городнюк Т.И. Фармакологическое изучение желчегонных и гепатопротекторных свойств новых лекарственных фитопрепаратов: датискана, танацехола и флакозида. // Автореф. дисс. ...канд.биол.наук.-Москва.-1988 г. -23 с.

6. Левшин Б.Н. Токсический гепатит, его течение и экспериментальная терапия//Механизмы повреждения резистентности, адаптации и компенсации.-Ташкент.1976-т.2
7. Матюшин Б.Н., Логинов А.С. и др. Активность микросомальных ферментов и перекисное окисление липидов в печени при ее поражении галактозамином.//Бюлл.эксперим.биологии и медицины.-1983-w2/-с.53-58.
8. Хвостова А.И. Метаболические превращения соединений бензо-гамма-пиранового ряда.// Автореф.дисс. ... канд.фарм. наук.- М.-1990 г., 23 с.
9. Шипулина Л.Д. Химиотерапевтическое изучение хелепина при экспериментальной герпетической инфекции. // Дисс. ... канд. биол.наук. – М.-1975 г.
10. Recknagel R/Carbon tetrachloride hepatotoxicity.//Pharmacoe.Rev.-1967.-vol.19,w2.-p.145-208
11. Liehr H.Experimentella Modelle zum schronischen Leberversagen.IWA-Schriftenz.Intersivmed.-Wotfallmed.-Anesthesiol-1981.-vol.25,-p.103-107
12. Hyman I.,Limmerman.Hepatotoxicity.Appleton-Centyry-grofts.Wene Iork.1978-p.35
13. Hoensch H. Òhe effects of alcohol on òhe liver.//Digestion.1972, 6, 2, p.114-123
14. Peazer L., Kuzela L.-Acta biol.med.germ.-1968, Bd 21,8.-p.121-124

VICHKANOVA S.A., BAGINSKAIA A.I., SHIPULINA L.D., KOLKHIR V.K.,
BORTNIKOVA V.V., GORODNUK T.I.

FLACOZID - EFFECTIVE PLANT DRUG FOR TREATMENT OF HEPATITISES VIRUS AND NOT OF A VIRUS ETIOLOGY, AND ALSO VIRUS DISEASES OF A SKIN

Flacozid - antiviral drug obtained from a velvet Phellodendron amurense Rupr. and Ph. Amurense var. lavalleyi (Dode) Sprague (Rutaceae)Amur. On the basis of the effectiveness, established at clinical examinations, and good acceptability flacozid was allowed to medical application at the adult both children as antiviral and antihepatotoxic tools. As an antiviral agent flacozid apply at acute virus hepatitis A and B, primary and relapsing shapes of prime herpes of extragenital and genital localization, herpes zoster, varicella zoster and measles. As an antihepatotoxic agent flacozid nominate at chronic diffuse diseases of a liver and biliary dyskinesia.

ШИПУЛИНА Л.Д. ВИЧКАНОВА С.А.
ВИЛАР, Москва, Россия

ИЗУЧЕНИЕ ХЕЛЕПИНА Д ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОФТАЛЬМОГЕРПЕСЕ

Среди известных науке 500 разновидностей болезнетворных для человека вирусов один из самых распространенных - вирус простого, или обычного, герпеса (ВПГ). В последние годы герпетическая инфекция, обусловленная ВПГ, привлекает все большее внимание. Это связано с тем, что герпес, известный с давних времен как малораспространенное и малозначущее заболевание, характеризовавшееся, в основном, высыпанием на губах и крыльях носа болезнетворных пузырьков, в последние годы основательно расширил свое

значение в патолоргии человека. Повышенный интерес к герпетической инфекции обусловлен также рядом других причин и прежде всего тем, что она распространена в самых различных районах мира поражая до 95% населения как в развитых, так и в развивающихся странах, а вызывающий ее вирус способен поражать практически все органы и системы человеческого организма и вызывать различные формы инфекции - острую, латентную и хронически рецидивирующую. В последние годы стали накапливаться данные о возможном участии ВПГ в развитии некоторых онкологических (рак шейки матки, аденома простаты) и сердечно-сосудистых заболеваний человека (атеросклероз, гипертония, кардиомиопатия). Важной особенностью герпеса является пожизненное носительство вируса и частые рецидивы болезни. Наряду с различными клиническими проявлениями этой инфекции (herpes zoster, поражения в области губ, носа и гениталий, вирусные стоматиты и отиты), получила значительное распространение герпетическая болезнь глаз - офтальмогерпес, характеризующийся хроническим течением, частыми рецидивами и ранним образованием стойких помутнений роговицы, приводящих к значительному снижению зрительных функций и нередко к инвалидности (1,4).

При лечении герпетических заболеваний наиболее эффективными оказались противовирусные препараты офтан-Иду, зовиракс, оксолин и др. Однако проблема лечения офтальмогерпеса остается до конца не решенной (3).

Во Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) разработан оригинальный противовирусный препарат ХЕЛЕПИН Д, представляющий собой сухой очищенный экстракт, получаемый из надземной части десмодиума канадского (*Desmodium canadensis* D.C.) семейства бобовых (Fabaceae). Хелепин Д обладает высокой противовирусной активностью в отношении вирусов группы герпеса, ингибируя развитие специфического ЦПД ВПГ-1 в культуре фибробластов эмбрионов кур. Выявлен химиотерапевтический эффект хелепина Д на модели герпетического энцефалита белых мышей. Кроме того, хелепин Д обладает умеренным бактериостатическим действием (200-500 мкг/мл) в отношении *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*. Наряду с высокой противовирусной активностью хелепин Д обладает иммуностимулирующими свойствами в отношении клеточного иммунитета, а также выраженными антигепатотоксическими, гипоазототемическими и интерферониндуцирующими свойствами. По показателям токсичности хелепин Д является практически нетоксичным, в том числе для развивающихся организмов. Хелепин Д не обладает эмбриотоксическими, тератогенными, мутагенными, местнораздражающими и аллергизирующими свойствами. Хелепин Д разрешен к медицинскому применению в качестве противовирусного средства у взрослых и детей при заболеваниях, вызываемых вирусами группы герпеса в виде таблеток по 0,1 г

для применения внутрь и в виде 1% и 5% мази при поражениях кожи и слизистых оболочек (5).

В настоящей работе представлены результаты изучения химиотерапевтической эффективности новой лекарственной формы хелепина Д - 0,2% глазных капель пролонгированного действия и таблеток хелепина Д по 0,1 г для применения внутрь на модели экспериментального офтальмогерпеса.

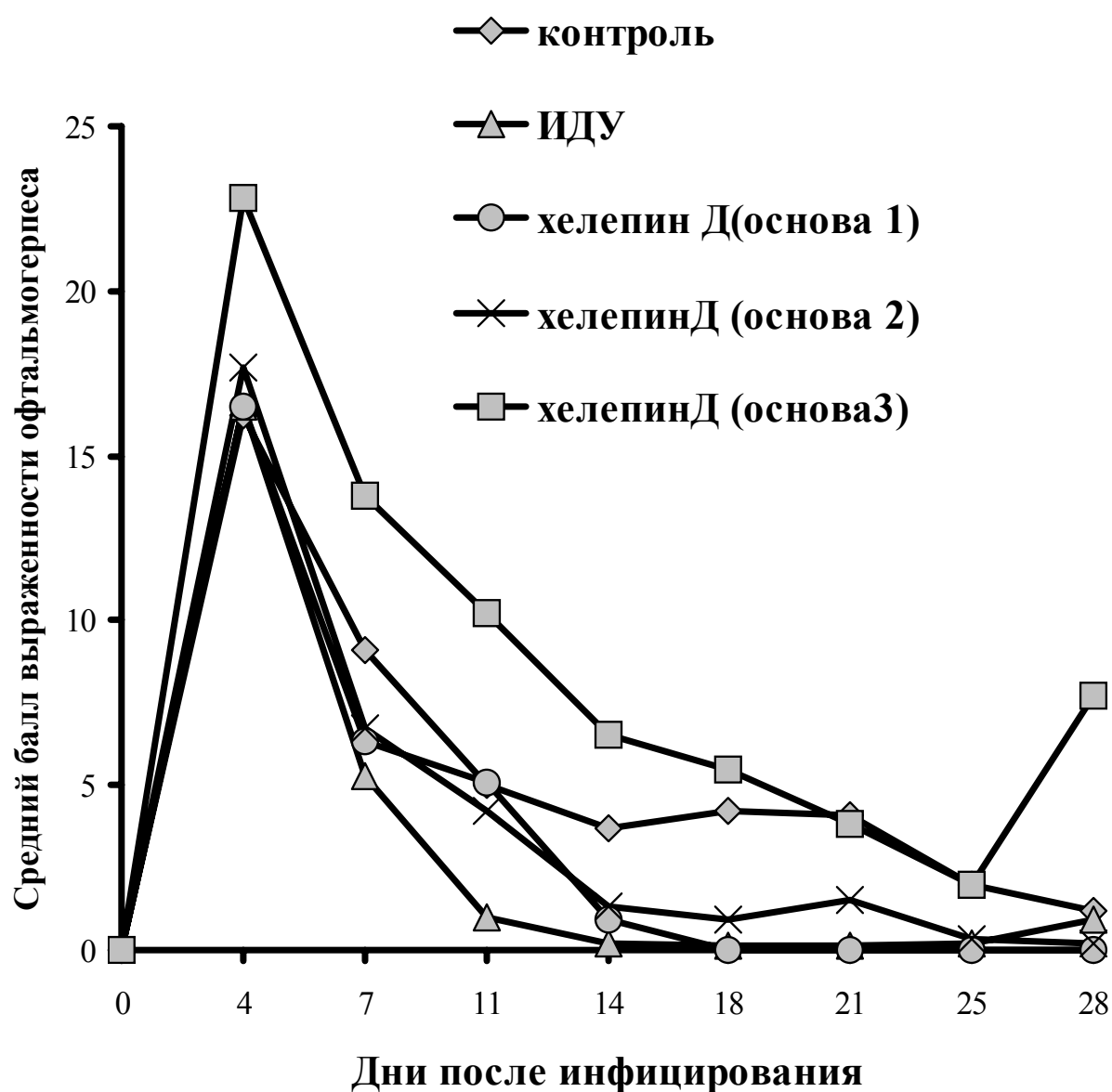
Для экспериментальных исследований были предоставлены глазные капли хелепина Д в виде 0,2% раствора в пипетках-капельницах с пластмассовыми пробками, наработанных на заводе эндокринных препаратов (г. Каунас). Для инфицирования животных использовали кератогенный штамм вируса простого герпеса 1 типа, штамм «ЕС». Исследования проводили на кроликах породы «шиншилла», массой 2-2,5 кг.

В опыте использовали методику воспроизводящую в эксперименте клинику герпетического кератоконъюнктивита. Глаз кролика анестезировали 0,5% раствором дикаина путем закапывания в конъюнктивальный мешок двух капель. Глазное яблоко выводили из орбиты и фиксировали. В центральной зоне роговицы, в поверхностном слое, острой иглой делали царапины в виде решетки диаметром не более 5-6 мм. Вируссодержащий материал наносили на поверхность роговицы в объеме 0,1 мл, слегка втирая его. Заражающая доза вируса в 0,1 мл составляла 10 LD₆₀. Для подавления вторичной (бактериальной) флоры сразу после инфицирования и в течение опыта проводили периодические инстилляций 30% раствора сульфацила натрия. Животных осматривали каждые вторые сутки с применением метода бокового освещения и флуоресцеиновой пробы. Оценку тяжести клинической картины проводили по трехбальной системе, разработанной проф. Ю.Ф.Майчуком и вычисляли средние индексы тяжести следующих клинических признаков: отека и гиперемии век, гиперемии конъюнктивы, отделяемого из конъюнктивального мешка, величины эрозии роговицы. Динамику развития патологического процесса определяли в течение всего опыта по степени тяжести клинического течения (2,3).

Лечение животных начинали при наличии выраженной клинической картины. Глазные капли хелепина Д вводили инфицированным животным путем инстилляций в конъюнктивальный мешок ежедневно по 2 капли 4 раза в сутки в течение всего опыта. В качестве контроля использовали офтан-иду в виде 0,1% раствора по 2 капли 4 раза в сутки. Всем кроликам, для подавления вторичной флоры, в течение всего опыта проводили периодические инстилляций 30% раствора сульфацила натрия. Исследования проведены на 30 кроликах. Длительность опыта 29 суток.

В предварительных опытах была выбрана основа для глазных капель хелепина Д (раствор хелепина Д 0,2%, нипагин 0,1%, полиглюкин 6%, рН раствора 6,4), при которой получен наиболее высокий химиотерапевтический эффект (рис.1).

Рис1 Терапевтическая эффективность глазных капель хелепина Д на разных основах при офтальмогерпесе



На 4 сутки после заражения, когда развилась картина типичного точечного кератита, были сформированы равноценные по клиническим признакам группы животных по 6 кроликов (12 глаз) в каждой и начинали лечение. В зависимости от применяемого лечения кролики были разбиты на три группы: первая группа 6 кроликов (12 глаз) - контроль заражения (без лечения); вторая группа 6 кроликов (12 глаз) - контроль лечения - лечение препаратом офтан-иду; третья группа 6 кроликов (12 глаз) - лечение глазными каплями хелепина Д на ранее выбранной основе состава: 0,2% раствор хелепина Д, нипагин 0,1%, полиглюкин 6,0%, pH раствора 6,4.

Клиническая картина заболевания глаз к началу лечения у всех животных была примерно одинаковой и характеризовалась наличием точечных эрозий роговицы, расположенных по всей ее поверхности, и гиперемией конъюнктивы.

В динамике лечения клинические проявления офтальмогерпеса нарастали - точечные эрозии слились и занимали почти всю поверхность роговицы, увеличилась степень инъекции глазного яблока, гиперемия и отечность конъюнктивы.

В группах животных, получавших в качестве противовирусной терапии 0,2% раствор хелепина Д на полиглюкине и офтан-иду уже на 11-14 сутки после инфицирования отмечали статистически достоверное снижение тяжести воспалительного процесса по сравнению с контрольной группой, не получавшей лечения.

При сравнительном анализе терапевтической эффективности глазных капель хелепина Д на полиглюкине и офтан-иду на течение экспериментального герпетического кератита кроликов установлено, что оба препарата достоверно сокращали сроки эпителизации роговицы. При этом отмечено, что эпителизация роговицы наступала в более ранние сроки в группе животных, получавших в качестве противовирусного лечения хелепином Д, чем в группе животных получавших офтан-иду ($12,2 \pm 1,1$ и $19,5 \pm 2,4$ дней соответственно). В контрольной группе животных не получавших лечения полное выздоровление наступало на $22,3 \pm 1,4$ сутки.

Таким образом, установлено, что глазные капли хелепина Д состава: 0,2% раствор хелепина Д на полиглюкине 6% обладали выраженной терапевтической эффективностью на модели экспериментального офтальмогерпеса (см.таблицу).

Таблица

Сравнительное химиотерапевтическое изучение глазных капель хелепина Д с Офтан-Иду

Лечение	Клинические проявления	Сроки выздоровления (сутки)	t_1	P_1	t_2	P_2
---------	------------------------	-----------------------------	-------	-------	-------	-------

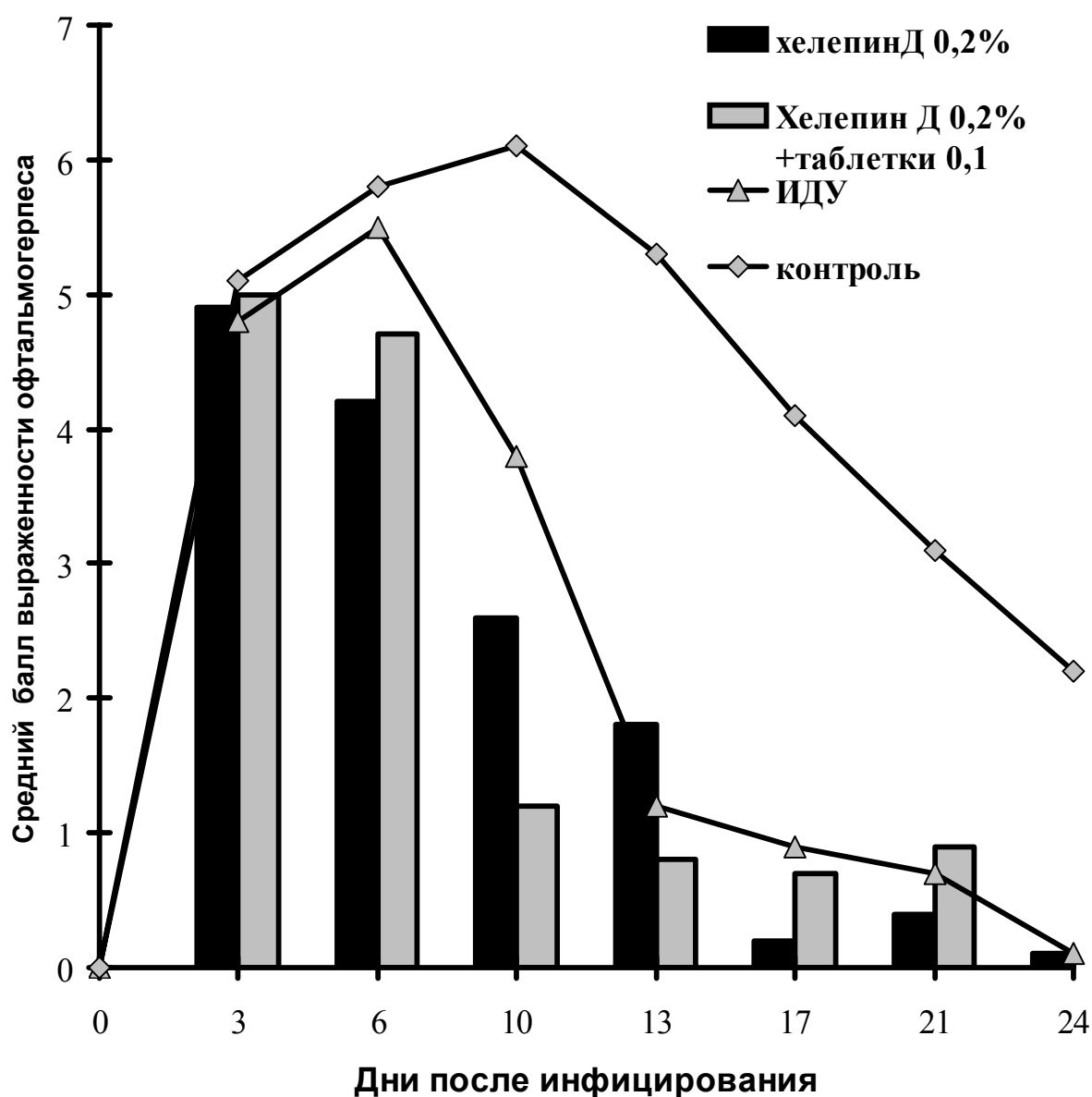
<i>ХЕЛЕПИН Д (0,2% раствор на основе 1)</i>	<i>Кератит</i>	<i>12,2\pm1,1</i>	<i>5,2</i>	<i>0,001</i>	<i>2,7</i>	<i>0,05</i>
	<i>Средняя степень тяжести клини- ческих проявлений</i>	<i>12,2\pm1,1</i>	<i>7,2</i>	<i>0,01</i>	<i>3,5</i>	<i>0,01</i>
<i>ОФТАН-ИДУ</i>	<i>Кератит</i>	<i>19,5\pm2,4</i>	<i>0,75</i>	<i>0,5</i>		
	<i>Средняя степень тяжести клини- ческих проявлений</i>	<i>20,6\pm2,1</i>	<i>0,7</i>	<i>0,5</i>		
<i>Контроль без лечения</i>	<i>Кератит</i>	<i>21,6\pm1,4</i>				
	<i>Средняя степень тяжести клини- ческих проявлений</i>	<i>22,3\pm1,4</i>				

Во второй серии опытов проводили изучение химиотерапевтической эффективности 0,2% раствора хелепина Д на полиглюкине 6% и таблеток хелепина Д по 0,1 г. Исследования проведены на кроликах 20 кроликах (40 глаз), породы «шиншилла», массой 2-2,5 кг. В зависимости от применяемого лечения кролики были разбиты на четыре группы: первая группа 5 кроликов (10 глаз) - лечение - инстилляцией глазных капель хелепина Д в сочетании с таблетками хелепина Д по 0,1 г; вторая группа 5 кроликов (10 глаз) - инстилляцией глазных капель хелепина Д; третья группа 5 кроликов (10 глаз) - инстилляцией глазных капель Офтан-Иду (контроль лечения); четвертая группа 5 кроликов (10 глаз) служила контролем заражения (без лечения).

Как видно из рисунка 2 в контрольной группе животных (без лечения), отмечено нарастание воспалительного процесса, который достигал своего максимального развития к 10-13 суткам после инфицирования и выражался в развитии стромальных кератитов и резко выраженной перикорнеальной инъекции глаз. В группах кроликов, получавших в качестве лечения глазные капли хелепина Д или Офтан-Иду, а также глазные капли хелепина Д в сочетании с таблетками хелепина Д, уже на 10 сутки после инфицирования отмечали статистически достоверное снижение тяжести воспалительного процесса по сравнению с контрольной группой, не получавшей лечения. Средний балл тяжести клинических признаков герпетической болезни этих групп кроликов был менее выражен по сравнению с контролем. В последующие сроки наблюдения у всех леченных животных отмечали снижение среднего индекса выраженности признаков герпетического воспаления. Полное клиническое выздоровление в группе кроликов, получавших в качестве лечения противовирусную терапию

0,2% раствором хелепина Д на полиглюкине в сочетании с таблетками хелепина Д наблюдали примерно в те же сроки, что и в группе животных, получавших в качестве лечения противовирусный препарат Офтан-Иду.

Рис.2 Терапевтическая эффективность глазных капель ХЕЛЕПИНА Д при экспериментальном офтальмогерпесе



Данные, полученные при изучении 0,2% раствора хелепина Д на полиглюкине 6% и таблеток 0,1 г на экспериментальной модели офтальмогерпеса, послужили основанием для разрешения ФГК МЗ РФ данного препарата в изученных лекарственных формах, для последующего исследования в клинических условиях.

ЛИТЕРАТУРА

мический кератоконъюнктивит - ЭКК), передающаяся воздушно-капельным путем, возникает как спорадически, так и в виде эпидемических вспышек, особенно в детских коллективах (3,4).

Применение глазных капель идоксуридина (ИДУ) в лечении герпетических заболеваний глаз (инстилляций - 0,1% раствора 6-8 раз в сутки, закладывание 0,5% глазной мази ИДУ 3-4 раза в сутки или введение глазных лекарственных пленок с ИДУ 1 раз в сутки) также имеет определенные ограничения в их использовании. Так, для ИДУ характерно отсутствие эффективности при аденовирусной инфекции и, вследствие этого, невозможность его применения при аденовирусных поражениях глаз; недостаточная эффективность ИДУ у больных с глубоким офтальмогерпесом; отсутствие лекарственной формы общерезорбтивного действия; ИДУ не предотвращает рецидивов заболевания; длительное применение препарата оказывает токсическое действие на клетки эпителия и строму роговицы; токсичность в отношении костного мозга.

Для лечения герпесвирусных и аденовирусных заболеваний глаз применяют противовирусные препараты, в том числе бонафтон (0,05% мазь и таблетки 0,1), оксолин (0,25% мазь), теброфен (0,5% мазь, флореналь (0,5% мазь) (2). Недостаточная эффективность данных лечебных средств, а также возможное развитие побочных реакций, как в виде местнораздражающего действия (жжение, слезотечение и др.), так и общих явлений в виде поноса, головной боли (например, при применении таблеток бонафтона), вызывают необходимость создания новых лечебных средств.

С целью расширения ассортимента противовирусных средств для лечения герпесвирусных и аденовирусных заболеваний глаз в ВИЛАРЕ разработан лечебный препарат Хелепин Д в виде 0,2% раствора на полиглюкине 6% и таблетки 0,1 г (1).

Хелепин Д – представляет собой сухой очищенный экстракт, получаемый из отечественного растения десмодиума канадского (*Desmodium canadensis* D.C.) семейства бобовых (Fabaceae). Основными биологически активными компонентами хелепина Д являются С-гликозиды апигенина и лютеолина - изоориентин, витексин и изовитексин. Хелепин Д обладает противовирусной активностью в отношении ДНК-содержащих вирусов группы герпеса, аденовирусов, умеренной антимикробной активностью, стимулирует индукцию гамма-интерферона и оказывает иммуностимулирующее действие в отношении клеточного и гуморального иммунитета. Хелепин Д разрешен для применения у взрослых и детей при острых и рецидивирующих формах простого герпеса генитальной и экстрагенитальной локализации, экземе Капоши, герпетических стоматитах, опоясывающем лишае, ветряной оспе, заболеваниях верхних дыхательных путей вирусной этиологии. Внутрь применяют таблетки хелепи-

на Д по 0,1 г в соответствующих возрастных дозировках и наружно: на кожу - 5% мазь (взрослые) и 1% мазь (дети), на слизистые оболочки - 1% мазь (взрослые и дети) (Рег. Уд. 99/47/11).

«Глазные капли хелепина Д» представляют собой 0,2% раствор препарата на полиглюкине 6%. Исследования, проведенные на модели экспериментального герпетического кератоконъюнктивита кроликов, показали, что при использовании глазных капель хелепина Д на полиглюкине получен химиотерапевтический эффект равный керециду (6). Гистологические исследования при длительных систематических инстилляциях раствора хелепина Д (как 2, так и 4 раза в день) не выявили патологических изменений в фиброзной капсуле и внутренних оболочках глаза.

В соответствии с решением Фармакологического государственного комитета клинические испытания хелепина Д в офтальмологии проводили в двух клиниках: в Институте глазных болезней им. Гельмгольца МЗ РФ и НИИ глазных болезней РАМН. Переносимость для больных и эффективность хелепина Д при герпесвирусной и аденовирусной инфекции глаз изучали в двух лекарственных формах: 0,2% раствор хелепина Д на полиглюкине 6% и таблетки по 0,1 г для применения внутрь.

В институте глазных болезней им. Гельмгольца (дир. проф. А.М. Южаков, зав. отделом инфекционных и аллергических заболеваний глаз – проф. Ю.Ф.Майчук) клинические исследования проведены на 1028 больных, включая группы сравнения (контроль), со следующей патологией: 15 больных с эпителиальным трофическим кератитом; 170 больных с древовидным кератитом (из них в 2% случаях с поражением стромы); 220 больных с глубоким офтальмогерпесом; 623 больных с аденовирусной инфекцией глаз (5).

Переносимость глазных капель хелепина Д изучали у 15 больных с эпителиальным трофическим кератитом (рецидивирующие эрозии, возникающие спонтанно в ночное или утреннее время, эпителиальные поверхностные язвочки или эрозии на фоне первичных дистрофий роговицы). При инстилляциях глазных капель хелепина Д больные не отмечали никаких ощущений, объективно – веки и конъюнктивы у них оставались спокойными, в роговице эрозии не увеличивались по площади и не углублялись, никаких токсических и аллергических проявлений не отмечали. При проведении кожных лекарственных проб с хелепином Д и тауфоном результаты были отрицательными.

При древовидном кератите эффективность препарата изучали в сравнении с ИДУ (табл.1). У 110 больных с поверхностным кератитом (локализация эрозий в передней трети стромы) в остром периоде заболевания 0,2% раствор хелепина Д закапывали до 6-8 раз в день; в процессе улучшения состояния число инстилляций уменьшали до 2-3 раз в день. На-

чало эпителизации отмечено на $4,1 \pm 0,1$ сутки (табл.1). Выздоровление у этих больных наступало в 70% случаев, улучшение – в 20%. У 20 больных с древовидным кератитом с поражением стромы (роговичный синдром, выраженная перикорнеальная инъекция глазного яблока, инфильтрация всех слоев роговицы с изъязвлениями над ней глубиной до 1/3 стромы, десцеметит; реакция со стороны радужной оболочки, единичные преципитаты, гиперемия и отек радужки, ригидность зрачка) к инстилляциям 0,2% раствора хелепина Д добавляли общую противовирусную терапию: таблетки хелепина Д по 0,1 г до 0,8 г в сутки. Курс лечения 7-8 дней. Контрольной группой служили больные, получавшие инстиллянии 0,1% раствора ИДУ до 6-8 раз в день в остром периоде заболевания. Эпителизацию роговицы в испытуемой группе наблюдали на $3,9 \pm 0,02$ сутки (в контрольной группе - на $3,0 \pm 0,4$); полное выздоровление наступило при лечении хелепином Д в среднем на 8,4 сутки (в контрольной – на $12,0 \pm 1,1$ сутки) в 45% случаях и улучшение также в 45% случаев, в контрольной группе – в 75 и 17,5%, соответственно.

Таблица 1

ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХЕЛЕПИНА Д ПРИ ДРЕВОВИДНОМ КЕРАТИТЕ В СРАВНЕНИИ С ИДУ

(по данным Института глазных болезней им. Гельмгольца МЗ РФ, зав. отделением проф. Ю.Ф.Майчук)

Метод лечения	Диагноз	n	Выздоровление, или значительное улучшение глаз, (%)	Без эффекта	Начало эпителизации, сутки	Полная эпителизация, сутки	Переносимость хорошая
ХЕЛЕПИН Д, 0,2% раствор, инстиллянии	Древовидный кератит (поверхностный)	110	90%	10%	$4,1 \pm 0,1$	$11,0 \pm 1,5$	100%
ИДУ, 0,1% раствор, инстиллянии	Древовидный кератит (поверхностный)	40	92,5%	7,5%	$3,0 \pm 0,4$	$12,0 \pm 1,1$	100%
ХЕЛЕПИН Д, 0,2% раствор, инстиллянии + табл. 0,1 г	Древовидный кератит с поражением стромы	20	90%	10%	$3,9 \pm 0,02$	8,4	100%

При глубоком офтальмогерпесе у 220 больных эффективность хелепина Д изучали в сравнении с интерфероном и бонафтоном (выраженный роговичный синдром, смешанная инъекция глазного яблока с преобладанием перикорнеальной, стромальный инфильтрат роговицы с изъязвлениями над ним, сопровождавшимися явлениями переднего увеита). Все больные страдали рецидивирующим офтальмогерпесом (от 1 до 7 рецидивов) и безрезультатно лечились по месту жительства, герпетический характер заболевания подтверждался типичным анамнезом, исключением других инфекций. В 30% случаев больные перенесли в прошлом древовидный кератит. В 65% случаев при обследовании конъюнктивы больного глаза методом флюоресцирующих антител выявили антиген вируса простого герпеса. В 10% случаев диагноз подтвердился при иммунологическом обследовании. Хелепин Д применяли 45 больным, в виде инстилляций 0,2% раствора до 8 раз в день в сочетании с применением его в виде таблеток по 0,1 г (суточная доза до 0,8 г). В контрольных группах (175 больных) применяли интерферон в виде инстилляций до 8 раз в день и субконъюнктивальных инъекций, в 26 случаях тяжелого течения заболевания дополнительно к интерферону назначали внутрь противовирусный препарат бонафтон в виде таблеток по 0,1 г 3 раза в день (до 10 дней). Противовирусную терапию в опытных и контрольных группах сочетали с метаболической (тауфон, актовегин, витодрал и др.), симптоматической (атропин, скополамин и др.) и противовоспалительной терапией, а также назначением антиоксидантов (гордокс, витамин К). Все больные находились под наблюдением терапевта: больным регулярно измеряли температуру, проводили общий анализ крови, биохимические исследования крови, ЭКГ, анализ мочи. В результате исследований больных (табл.2), получавших хелепин Д, отмечена хорошая переносимость препарата, как при местном, так и при общем применении: никаких отклонений от физиологической нормы со стороны глаза и общего состояния организма больных не наблюдали. Выздоровление наступило в 60% случаев (в среднем на $20 \pm 4,2$ сутки), улучшение - в 29%. В контрольной группе выздоровление наблюдали в 63,3% (на $21,8 \pm 1,7$ сутки), улучшение - в 22,2%. В 26 тяжелых случаях, где к интерферону добавляли бонафтон, выздоровление наступило в 34,6% случаев (на $22,0 \pm 1,7$ сутки), но в 7,2% случаев у больных были явления диспепсии.

Эффективность применения хелепина Д у 330 больных в возрасте от 7 до 63 лет с аденовирусной инфекцией глаз (в том числе у 129 больных с АВК и у 101 больного с ЭКК) изучали в сравнении с бонафтоном. Этиология заболевания в 36% случаев подтверждена методом флюоресцирующих антител в соскобе с конъюнктивы, типичным анамнезом и клиническим течением.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХЕЛЕПИНА Д У БОЛЬНЫХ ПРИ ГЛУБОКОМ ОФТАЛЬМОГЕРПЕСЕ В СРАВНЕНИИ С ИНТЕРФЕРОНОМ И БОНАФТОНОМ

(по данным Института глазных болезней им. Гельмгольца МЗ РФ, зав. отделением проф. Ю.Ф.Майчук)

Метод лечения	Общее число больных	Полная эпителизация, сутки	Исчезновение уевита, сутки	Полное клиническое выздоровление, сутки	Выздоровление, или значительное улучшение, %	Без эффекта	Переносимость
ХЕЛЕПИН Д 0,2% раствор, инстилляций 6-8 раз в сутки + табл. 0,1 г (0,8 г в сутки)	45	14,3 ± 0,8	10,3 ± 0,9	20,0 ± 4,2	89%	11%	Хорошая, 100%
ИНТЕРФЕРОН , Инстилляций по 50 ед 3 раза в сутки + субконъюнктивальные инъекции	175	14,5 ± 0,15	11,4 ± 1,6	21,8 ± 1,7	85,5%	14,9 %	Хорошая, 100%
ИНТЕРФЕРОН Инстилляций по 50 ед 3 раза в сутки + БОНАФТОН, табл. 0,1 г (0,3-	Из них тяжелых больных 26	-	-	22,0 ± 3,7	45,9%	51,7 %	Побочные явления в 7,2%

0,5 г в сутки)							(дис- пеп- сия)
----------------	--	--	--	--	--	--	-----------------------

Из 129 больных с аденовирусным конъюнктивитом (АВК) 71 больному (115 глаз) применяли инстилляцию 0,2% раствора хелепина Д 3-4 раза в день и 58 больным (116 глаз) – мазь бонафтона 0,5%. Хелепин Д все больные переносили хорошо. В контрольной группе у больных, получавших мазь бонафтона, в 25% случаев (29 глаз) отмечено жжение и гиперемия глаз. Полное выздоровление у больных, леченных хелепином Д, отмечено на $14 \pm 3,0$ сутки в 61,1% случаев (70 глаз), улучшение – в 33% (37 глаз), в контрольной группе выздоровление у 50% (58 глаз), улучшение у 25% (29 глаз) (табл.3).

Таблица 3.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ХЕЛЕПИНА Д У БОЛЬНЫХ С АДЕНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ГЛАЗ

(по данным Института глазных болезней им. Гельмгольца МЗ РФ, зав. отделением проф. Ю.Ф.Майчук)

Диагноз	МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ	Число больных	Число глаз	МФА	УЛУЧШЕНИЕ (число/%)	ПОЛНОЕ ВЫЗДОРОВЛЕНИЕ, (число/%)	ПЕРЕНОСИМОСТЬ	
							хорошая	плохая
АВК	ХЕЛЕПИН Д, 0,2% раствор	71	115	36,3%	37 / 33%	70 / 61%	100%	
	БОНАФТОН, 0,5% мазь	58	116		29 / 25%	58 / 50%	75%	25%
ЭКК	ХЕЛЕПИН Д, 0,2% раствор + табл. 0,1 г (0,8 г в сутки)	69	128	15%	49 / 39%	76 / 60%	100%	
	БОНАФТОН, 0,5% мазь + табл. 0,1 г (0,3-0,5 г в сутки)	32	60		15 / 25%	31 / 51%	77%	14 / 23%

Последствия ЭКК	ХЕЛЕПИН Д, 0,2% раствор + ДЕКСАМЕТАЗОН, 0,1% раствор	99	198		20%	80%	100%	
-----------------	--	----	-----	--	-----	-----	------	--

Из 101 больного с эпидемическим кератоконъюнктивитом (ЭКК) 69 больных (125 глаз) лечили хелепином Д в виде инстилляций 3-4 раза в день и таблеток по 0,1 г 3 раза в день, контрольная группа – 32 больных (60 глаз) получили лечение Бонафтоном (местно 0,5% мазь 2-3 раза в день и таблетки по 0,1 г 3 раза в сутки). Полное выздоровление при лечении хелепином Д отмечено в 60,5% случаев (в контроле – 51%), улучшение – в 29,4%. Хелепин Д все больные переносили хорошо. Бонафтон в 23,0% случаев отменили из-за плохой переносимости: как общей (диспепсия), так и местной (гиперемия, легкое жжение).

Клинические испытания хелепина Д в сравнении с интерфероном проведены на 294 больных с аденовирусной инфекцией глаз (АВК и ЭКК). Диагноз обосновывался на данных анамнеза и клинической картине заболевания. В 33,5% случаев диагноз подтверждался обнаружением антигена аденовируса в соскобе с конъюнктивы методом флюоресцирующих антител. У больных с аденовирусным конъюнктивитом (АВК) хелепин Д применяли 67 больным (106 глаз) в виде инстилляций глазных капель (0,2% раствор на 6% полиглюкине) 6 раз в день. Контрольной группе больных (215 глаз) закапывали раствор интерферона 6 раз в день (150 тыс. единиц). У больных, получавших хелепин Д, полное выздоровление наступило на 12 сутки у 63% больных, улучшение – у 36% больных. Аналогичные данные получены у больных в контрольной группе больных, получавших интерферон (выздоровление в 65% и улучшение в 33%). Таким образом терапевтическая эффективность хелепина Д при АВК при инстилляциях глазных капель примерно соответствовала эффективности интерферона.

При эпидемическом кератоконъюнктивите (ЭКК) 119 больных применение инстилляций глазных капель хелепина Д 6 раз в день изучали в сравнении с интерфероном (150 ЕД). Отмечена хорошая переносимость хелепина Д, лишь отдельные больные жаловались на проходящие симптомы (зуд, дискомфорт) после инстилляции глазных капель. В проводимых клинических анализах крови все показатели были в пределах нормы. Полное выздоровление у больных, леченных хелепином Д, наблюдалось на $19 \pm 0,3$ сутки в 61% (по сравнению с интерфероном лучше на 7,3%). Интересные данные получены при применении хелепина Д при осложнениях ЭКК. У 99 больных с монетовидными помутнениями роговицы после ЭКК (198 глаз) хелепин Д применяли в инстилляциях 0,2% раствора на 6% полиглюкине на фоне проводимого курса рассасывающей местной терапии 0,1% раствором дексаметазона. Полное

рассасывание монетовидных помутнений при использовании хелепина Д отмечали в 70% случаев.

Клинические исследования, проведенные в НИИ глазных болезней РАМН (дир. Акад. М.М.Краснов, зав. отделением реконструктивной хирургии глаз – проф. А.А.Каспаров) на 25 больных в возрасте от 21 года до 65 лет с древовидным кератитом (13 больных), метагерпетическим кератитом с изъязвлениями (7 больных) и (5 послеоперационных больных после послойной лечебной кератопластики. Хелепин Д всем больным применяли в виде 0,2% раствора 4-6 раз в день (в зависимости от тяжести процесса) и таблеток по 0,1 г 3 раза в день. Отмечена хорошая переносимость препарата. Инстилляции глазных капель на 2-3 сутки только у двух больных вызывали явления раздражения, самостоятельно исчезающие после отмены препарата. Исследования показали, что у 13 больных с древовидным кератитом на 3-5 день от начала лечения отмечались первые признаки ремиссии, к 12 дню достигалась эпителизация роговицы, к 14-15 дню отмечалась резорбция инфильтратов в роговице. В среднем срок лечения составляет 17 суток, у 7 больных с метагерпетическим кератитом с изъязвлениями, у которых хелепин Д применяли после длительного неэффективного лечения другими препаратами (пирогенал, интерферон), эпителизация отмечалась у 6 больных к 10-12 дню, а средний срок лечения составил 28 суток. Применение хелепина Д в качестве противовирусного средства у 5 больных в течение двух недель после лечебной послойной кератопластики дало хороший лечебный эффект в 4 случаях. Клиника также рекомендовала Хелепин Д в изученных лекарственных формах (глазные капли 0,2% в сочетании с таблетками 0,1 г) в качестве лечебного средства при офтальмогерпесе, в том числе при древовидном, метагерпетическом кератите, а также в качестве профилактического противорецидивирующего средства у больных с герпетическим кератитом в послеоперационном периоде.

Таким образом, новое лекарственное средство «Хелепин Д», получаемое из травы десмодиума канадского, при клиническом исследовании в виде 0,2% раствора на полиглюкине 6% и в виде таблеток 0,1 г, обладает хорошей переносимостью, не оказывая замедляющего действия на заживление рецидивирующих эрозий роговицы и местнораздражающего действия на конъюнктиву глаза. Хелепин Д не вызывает явлений аллергизации, а проведенные кожные аллергические пробы с хелепином Д были отрицательными. При поверхностных формах древовидного кератита хелепин Д при инстилляции 0,2% раствора на полиглюкине 6% оказывал практически одинаковый лечебный эффект с ИДУ при инстилляции 0,1% раствора. При глубоких формах древовидного кератита с поражением стромы, при котором ИДУ не эффективен, хелепин Д оказывал высокий терапевтический эффект при комплексном применении инстилляций глазных капель (0,2% раствор на полиглюкине 6%) и таблеток (по 0,1-0,2 г) 3-4 раза в сутки. При аденовирусной инфекции АБК и ЭКК, при которой ИДУ

не применяется, для хелепина Д выявлена значительная эффективность при назначении в виде инстилляций 0,2% раствора на полиглюкине 6% в сочетании с таблетками (0,1- 0,2 г 3-4 раза в сутки). Назначение хелепина Д при указанной патологии позволяет оказывать противовирусное и противовоспалительное действие как общее, так и местное, и использовать его как при поверхностных, так и при глубоких формах кератита с поражением стромы, а также при аденовирусных заболеваниях глаз (АВК и ЭКК), при этом дозировка хелепина Д, частота и продолжительность курса лечения подбираются индивидуально и зависят от формы и тяжести заболевания.

На основании рассмотрения результатов клинического изучения Приказом Минздрава России (№47 от 10.02.99 г.) разрешено медицинское применение «ХелепинаД» у взрослых и детей в качестве противовирусного средства и промышленный выпуск в лекарственных формах – 0,2% раствор на полиглюкине 6% для глазных инстилляций и таблетки по 0,1 г для применения внутрь, в качестве препарата, применяющегося при лечении офтальмогерпеса и аденовирусных инфекций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вичканова С.А., Шипулина Л.Д., Глызин В.И., Майчук Ю. Ф., Орловская Л.Е., Смирнова Л.П., Климахин Г.И. Лекарственное средство. // Патент на изобретение №2120294 с приоритетом изобр. 17 сентября 1996 г. Заявка 396118559 от 17 сентября 1996 г. Зарегистрирован в Гос.реестре изобр. 20 октября 1998 г.
2. Базанов Г.А., Адрианов А.П., Олейникова Т.Ю. Лекарственная терапия вирусных заболеваний. / Справочник. //Москва-Тверь.- Изд-во «Губернская медицина».-2000.- С. 18-19.
3. Кацнельсон А.Б. Герпетические заболевания глаз. // Ленинград.- Изд-во «Медицина».- 1969 г.
4. Орловская Л.Е., Майчук ЮФ. Хелепин Д – отечественный противовирусный препарат растительного происхождения. // Материалы Второго научного конгресса «Традиционная медицина: теоретические и практические аспекты».- Чебоксары. – Май 21-23, 1996 г.- Ч. 1.- С.92.
5. Шипулина Л.Д., Вичканова С.А., Глызин В.И. Эффективность хелепина Д в терапии экспериментального герпетического кератоконъюнктивита. //Материалы Второго научного конгресса «Традиционная медицина: теоретические и практические аспекты».- Чебоксары. – Май 21-23, 1996 г.-Ч. 1.- С.107.

EFFECTIVENESS HELEPIN Ä AT TREATMENT HERPES AND ADENOVIRAL INFECTION of an EYE

Helepin D - antiviral drug obtained from *Desmodium canadensis*. The high performance and safety helepin D is shown at clinical study. Helepin Ä is allowed to medical application at the adult and children as antiviral tools and industrial issue in the medicinal shapes - 0,2 % a solution on Polyglucinum 6 % for eye instillation and tablet on 0,1 ä for application inside, as a drug used at treatment ophthalmoherpes and adenoviral infections of an eye.

КРУТИКОВА Н.М., ВИЧКАНОВА С.А.

ВИЛАР, Москва, Россия

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭВКАЛИМИНА В СВЕТЕ СОВРЕМЕННОГО ПОДХОДА К ПРЕПАРАТАМ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ

За последнее годы этиологическая структура возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний претерпела существенные изменения и среди основного ряда патогенных микроорганизмов появились возбудители, относящиеся ранее к условно-патогенной микрофлоре. При этом значительно увеличилось число штаммов микроорганизмов, обладающих множественной резистентностью к современным антибиотикам и синтетическим антибактериальным средствам. (С.М.Навашин и соавт, 1988; 1990; В.П.Яковлев, 1992).

Эвкалимин оригинальный отечественный препарат, выделенный из листьев или побегов эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* Labill.) семейства миртовых (Myrtaceae), представляет собой очищенную сумму терпеноидных фенолоальдегидов флороглюцинового ряда (эуглобали) и тритерпеноидов. За биологическую активность препарата ответственны фенолоальдегиды флороглюцинового ряда (эуглобали). Эвкалимин обладает (табл.1) широким спектром антимикробной активности и оказывает высокое бактериостатическое действие в отношении ряда лабораторных штаммов патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, ингибируя рост грамположительных бактерий, таких как *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus anthracoides*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Myc.tuberculosis* (МИК: 0,24 - 62,5 мкг/мл). Эвкалимин слабо активен в отношении мицелиальных грибов (рода *Microsporum* и *Trichophyton*) и дрожжеподобных грибов (рода *Candida*), и в дозе 500 мкг/мл и ниже не проявил активности в отношении грамотрицательных микроорганизмов рода *ESCHERICHIA* и *PSEUDOMONAS*.

При сравнительном изучении в опытах in vitro антимикробной активности эвкалимина и хлорофиллипта (препарат из *Eucalyptus globulus* Labill.) в отношении штаммов стафи-

лококка с разной степенью лекарственной резистентности (*S. aureus* 209-P, *S. aureus* «Жаев» и *S. aureus* 291) установлено, что эвкалимин по бактериостатическому действию в 4-16 раз превышает активность хлорофиллипта (табл.2).

Таблица 1

Антимикробный спектр эвкалимина

№№ пп	Наименование штаммов	Активность, мкг/мл
1	<i>Staphylococcus aureus</i> “Жаев”	0,98
2	<i>Staphylococcus aureus</i> “Турі”	15,6
3	<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P	0,98-7,8
4	<i>Staphylococcus aureus</i> 69-P	31,2
5	<i>Staphylococcus aureus</i> 20-P	1,95
6	<i>Staphylococcus aureus</i> 18-P	62,5
7	<i>Streptococcus haemolyticus</i> 295	0,98
8	<i>Streptococcus pyogenes</i> 1512 группы А	0,98-1,95
9	<i>Bacillus subtilis</i> 6633	3,9-7,8
10	<i>Bacillus anthracoides</i> 96	0,49
11	<i>Corynebacterium diphteriae gravis</i> 75	7,8
12	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H-37 Rv	62,5
13	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> “Academia”	7,8-31,2
14	<i>Escherichia coli</i> M-17	н/а 500
15	<i>Proteus vulgaris</i> OX ₂ 26-27	н/а 500
16	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 165	н/а 500
17	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 25292	н/а 500
18	<i>Microsporum lanosum</i>	125-250
19	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>granulosum</i> (gypseum)**	500
20	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>granulosum</i> 3/4 ***	1000
21	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>interdigitale</i> 41/2922 ***	1000
22	<i>Trichophyton rubrum</i> **	1000
23	<i>Candida albicans</i>	250

Примечание: *) - резистентные к пенициллину (в концентрации 500 мкг/мл), полученные из ВНИИА; **) - штаммы, полученные из ЦКВИ; ***) - штаммы, полученные из ВНИИА

Таблица 2

Сравнительное изучение эвкалимина и хлорофиллипта

Препарат	МИК, мкг/мл		
	<i>S. aureus</i> “Жаев”	<i>S. aureus</i> 209-P	<i>S. aureus</i> №291

Эвкалимин	1,95	3,9	7,8
Хлорофиллипт	15,6	62,5	31,2

Ингибирующее действие эвкалимина изучали также в отношении 160 клинических штаммов патогенных микроорганизмов (табл.3), выделенных из органов и тканей больных различных клинических учреждений г. Москвы в 1991-1995 гг. (ВНИИТ и ИО РАМН, НИИАГП РАМН, Институт хирургии им. А.В.Вишневского, ЦКИБ №1, кафедра инфекционных болезней РМАПО). Идентификация микроорганизмов и определение антибиотикограммы возбудителя проведены в соответствующих подразделениях этих учреждений. Бактериостатическую активность эвкалимина определяли методом двукратных серийных разведений в соответствующих каждому микроорганизму жидких питательных средах (Крутикова, 1997).

Изучение бактериостатической активности эвкалимина в отношении клинических штаммов стафилококков проводили с использованием 42 штаммов патогенных микроорганизмов рода *STAPHYLOCOCCUS* (*S.aureus*, *S.albus*, *S.epidermidis*), выделенных из различных органов и тканей (носоглотка, кровь, шейка матки, гнойные раны, в том числе ожоговые) больных. 90% взятых в исследование штаммов стафилококков являлись полирезистентными и были устойчивы к таким широко используемым в настоящее время антибиотикам, как ампициллин, карбенициллин, тетрациклин, гентамицин, эритромицин, кефзол, цеполин, цефалексин, полимиксин, фузидин и др., а также к антибактериальному препарату диоксидину. Для проведения исследований использовали МПБ. Установлено, что эвкалимин обладает высокой бактериостатической активностью в отношении всех исследованных клинических штаммов микроорганизмов рода *STAPHYLOCOCCUS*, обладающих моно- и полирезистентностью в отношении современных антибиотиков. МИК эвкалимина для них составила: в отношении *S.aureus* - 3,9-31,2 мкг/мл; *S.albus* - 7,8-15,6 мкг/мл; *S.epidermidis* - 1,95-7,8 мкг/мл.

При изучении активности эвкалимина в отношении клинических штаммов пневмококков и стрептококков в качестве объектов исследования взяты 23 штамма *Streptococcus pneumoniae* и 8 штаммов *Streptococcus viridans*, выделенных со слизистой дыхательных путей больных (нос, зев, мокрота). Штаммы *Str. pneumoniae* были устойчивы к ампициллину и бензилпенициллину, а *Str. viridans* - к ампициллину, бензилпенициллину и неомицину. Ус-

тановлено, что эвкалимин обладает бактериостатическим действием в отношении *S.pneumoniae*: МИК эвкалимина составила 1,95-31,2 мкг/мл (при этом МИК=3,9 мкг/мл получена в 87% случаев); в отношении *S.viridans* МИК эвкалимина = 3,9-7,8 мкг/мл.

Ингибирующее действие эвкалимина в отношении энтерококков проведено с использованием 14 клинических полирезистентных штаммов *Streptococcus faecalis* (карбенициллин, ампициллин, оксациллин, тетрациклин, эритромицин, олеандомицин, гентамицин, полимиксин и др.). Установлено, что эвкалимин обладал бактериостатической активностью в отношении *Streptococcus faecalis*: МИК эвкалимина составляла 0,49-1,95 мкг/мл.

Активность эвкалимина в отношении клинических штаммов возбудителя дифтерии изучали в отношении 13 штаммов *Corynebacterium diphtheriae*, выделенных из зева и носоглотки больных и являющихся токсигенными. Установлено, что МИК эвкалимина в отношении дифтерийных возбудителей составляет 3,9 - 62,5 мкг/мл, при этом в 77% случаев МИК=15,6-31,2 мкг/мл.

Исследования в отношении клинических штаммов грамотрицательных микроорганизмов проведены с использованием 60 клинических штаммов, выделенных из различных органов и тканей (рана, кровь, моча, желчь, мокрота, зев, трахея, почка, шейка матки, вагина, клапан, прокладка с клапана, дренаж). Среди них бактерии рода *PSEUDOMONAS* составляют 41% , бактерии рода *SERRATIA* - 21%, бактерии рода *ACINETOBACTER* - 7%, бактерии рода *ENTEROBACTER* - 7%, бактерии рода *ESCHERICHIA* - 17%, бактерии рода *KLEBSIELLA* - 3%, бактерии рода *CITROBACTER* - 2%, бактерии рода *PROTEUS* - 2%.

Исследования показали (табл.3), что бактериостатическая активность эвкалимина в отношении клинических штаммов грамотрицательных микроорганизмов в сравнении с грамположительными микроорганизмами сильно варьирует. При этом относительно более чувствительными являются бактерии рода *ACINETOBACTER* (3 штамма из 4-х чувствительны к эвкалимину в концентрации 15,6-125 мкг/мл), бактерии рода *SERRATIA* (50% чувствительны к 31,2-125 мкг/мл эвкалимина), 1 из 4-х штаммов бактерий рода *Enterobacter* чувствителен к 62,5 мкг/мл эвкалимина. Остальные изученные клинические штаммы грамотрицательных микроорганизмов были малочувствительны (МИК эвкалимина составляет 500 мкг/мл и более) или не чувствительны к 8000 мкг/мл эвкалимина.

Согласно протоколу ВОЗ среди микроорганизмов - основных возбудителей инфекционно-воспалительных заболеваний, подлежащих эпидемиологическому надзору, на первом месте упоминается *Staphylococcus aureus* (В.И. Покровский и соавт., 1991). Учитывая высокую эффективность эвкалимина в отношении патогенных микроорганизмов рода *STAPHYLOCOCCUS* , обладающих моно- и полирезистентностью, было целесообразно изучить возможность развития устойчивости к эвкалимину данного вида микроорганизмов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МОНО - И ПОЛИРЕЗИСТЕНТНОСТИ
КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ К ЭВКАЛИМИНУ (сводные данные)

Название микроорганизма	Число изученных штаммов	МИК, мкг/мл
<i>Грамположительные микроорганизмы:</i>	100	
STAPHYLOCOCCUS		
S.aureus	27	3,9 - 31,2
S.epidermidis	11	1,95 - 7,8
S.albus	4	7,8 - 15,6
STREPTOCOCCUS		
S.pneumoniae	23	1.95 - 31.2 (МИК= 3.9
S.viridans	8	- 87%) 3.9 - 7.8
ENTEROCOCCUS		
Str.faecalis	14	0,49-1,95
CORYNEBACTER		
Cor. Dphtheriae	13	3,9-62,5 (МИК=15,6-31,2-77%)
<i>Грамотрицательные микроорганизмы:</i>	60	
SERRATIA		
S. marcescens	11	31,2 - 500
S. rubidae	2	1000
ACINETOBACTER		
A. anitratus	3	15,6-125 (1штамм-
A. icoeffi	1	2000) 15,6
ENTEROBACTER		
E. cloaceae	2	8000
E. aerogenes	2	62,5; 2500
ESCHERICHIA		
E. coli	10	500 - 4000 (7 штаммов - н/а 8000)
PSEUDOMONAS	23	500-8000
P.aeruginosa	1	2000
P. maltophylia		
KLEBSIELLA		
K.osaenae	1	4000
K. pneumoniae	1	2000
CITROBACTER	1	2000
C. intermedius		
PROTEUS	2	н/а 8000
P. mirabilis		

В качестве тест-микроорганизмов использовали лабораторный антибиотикочувствительный штамм *Staphylococcus aureus* 209-P и клинический полирезистентный штамм *Staphylococcus aureus* 291. Исследование проводили с использованием метода непрерывных воздействий и метода серийных пассажей (Р. Шнитцер, Э. Грунберг, 1960; Г.Н. Першин, 1972). При применении метода непрерывного воздействия микроорганизмы остаются в контакте с препаратом более длительное время, чем то, которое необходимо для их полного развития. Проведенные исследования показали, что в течение всего времени контакта (60 дней) обоих штаммов стафилококка с препаратом чувствительность к эвкалимину практически не изменялась и сохранялась в пределах соседних разведений. Метод многократных воздействий в серийных пассажах основан на применении бактериостатических, постепенно возрастающих концентраций препарата и малого количества посевного материала. В соответствии с методом серийных разведений готовили ряд убывающих концентраций эвкалимина от 1000 мкг/мл до 1,95 мкг/мл в МПБ. Результаты в каждом пассаже учитывали по МИК эвкалимина в отношении культуры высеваемой на МПА в предыдущем опыте. Исследования проводили в трех параллельных опытах. Колебания в МИК, выявленные при проведении 20 пассажей, находились в пределах соседних разведений, не носили постоянного характера и обусловлены особенностями метода серийных разведений, при этом конечная чувствительность обоих штаммов стафилококка после проведения 20 пассажей (в течение 3,5 месяцев) не превышала уровня 15,6-31,2 мкг/мл, что свидетельствует об отсутствии снижения чувствительности у изученных тест-микроорганизмов к эвкалимину. Таким образом, результаты опытов, проведенных двумя методами с использованием двух штаммов показали отсутствие развития резистентности стафилококка к эвкалимину, что позволяет предположить малую вероятность снижения чувствительности к эвкалимину при его применении в практической медицине.

Химиотерапевтическое изучение эффективности эвкалимина проведено на трех экспериментальных моделях, соответствующих общепринятым принципам исследования химиотерапевтической эффективности препаратов (Г.Н.Першин, 1971): инфицированной ране белых крыс, гнойной язве белых крыс и стафилококковом экспериментальном вагините (С.А. Вичканова, 1981; С.Б. Изосимова, 1982; С.А. Вичканова, С.Б. Изосимова, 1985; Н.М. Крутикова, 1997). На модели инфицированной раны белых крыс эвкалимин изучали в виде 0,25% и 1% растворов на 95% этиловом спирте. В качестве тест-культуры использовали лабораторный штамм *Staphylococcus aureus* 209-P. Рану создавали у 44 белых крыс, самцов, массой 80-100 г на предварительно депилированном участке (5x5 см) кожи спины. Лечение начинали через 72 часа после заражения и проводили путем орошения раны в течение 3-х минут ежедневно, один раз в сутки на протяжении всего опыта. Первой группе животных рану орошали 1% раствором эвкалимина, разведенным 1:50 стерильной дистиллированной

водой. Второй группе животных применяли 95% этиловый спирт, разбавленный 1:50 дистиллированной водой (контроль лечения). В третьей группе животным наносили на рану 0,25% раствор эвкалимина. Контролем лечения к этой группе являлись животные четвертой группы, которым применяли на рану 95% этиловый спирт. Контролем заражения служила пятая группа инфицированных животных, не подвергавшихся лечению. Инфекционный процесс в ране контролировали путем периодических высевов из ран культуры. Результаты фиксировали по срокам заживления раны (в сутках), с учетом средней суммарной площади поражения (мм^2). Статистическую обработку данных проводили по методу Стьюдента (М.Л.Беленький, 1963). Как видно из таблицы 4, разница в сроках заживления инфицированной раны белых крыс и суммарной площади поражения леченых эвкалимином животных в сравнении с контрольными группами, свидетельствовала об эффективности эвкалимина при раневой инфекции белых крыс, вызванной золотистым стафилококком. Химиотерапевтический индекс эвкалимина равен 500*.

Таблица 4

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭВКАЛИМИНА НА МОДЕЛИ ИНФИЦИРОВАННОЙ РАНЫ БЕЛЫХ КРЫС

№ группы	ЛЕЧЕНИЕ		n	S, мм^2	СРОКИ ЗАЖИВЛЕНИЯ		
	Лекформа препарата	Способ применения			Сутки	P(k_1)	P(k_2)
1	1% р-р эвкалимина на 95% этил.спирте	в разведении 1:50 стерильной дист.водой	9	517,6	$15,6 \pm 1,4$	<0,05	<0,05
2	Этиловый спирт	в разведении 1:50 стерильной дист.водой	9	874,4	$19,1 \pm 0,01$	>0,05	-
3	0,25% р-р эвкалимина на 95% этил.спирте	не разведенный	9	572,7	$15,1 \pm 0,68$	<0,05	<0,05
4	Этиловый спирт	95%	9	659,4	$18,05 \pm 0,33$	>0,5	-
5	Контроль заражения	без лечения	8	730,4	$18,3 \pm 0,49$	-	-

k_1 - в сравнении с контролем без лечения; k_2 - в сравнении с основой (спирт этиловый, разбавленный 1:50 и спирт этиловый - 95%).

На модели гнойной язвы белых крыс химиотерапевтическую эффективность эвкалимина (1% раствора на 95% этиловом спирте) изучали в сравнении с хлорофиллиптом (1% раствора на 95% этиловом спирте) на 32 белых крысах, самцах, весом $100 \pm 10,0$ г. Лечение

проводили ежедневно, путем орошения в течение трех минут язвы растворами препаратов, приготовляемыми *ex tempore*. Первой группе животных язву орошали 1% раствором эвкалимина, разведенным 1:5 0,25% раствором новокаина. Во второй группе для лечения использовали 1% раствор эвкалимина, разведенный изотоническим раствором натрия хлорида. Животных третьей группы лечили 1% раствором хлорофиллипта, разведенным 1:5 0,25% раствором новокаина. Контролем заражения служила группа животных, не подвергавшихся лечению. Длительность опыта - 18 суток. Динамику инфекционного процесса контролировали путем периодических высевок. Опыт учитывали по средним срокам заживления гнойной язвы и средней суммарной площади поражения (мм²). Статистическую обработку проводили по методу Стьюдента.

Исследование показало (табл.5), что применение эвкалимина на данной модели оказывало значительный химиотерапевтический эффект. Более ранние сроки заживления гнойной язвы белых крыс и суммарная площадь поражения свидетельствовали о преимуществе эвкалимина перед хлорофиллиптом при сравнении их в одной и той же лекарственной форме и дозе. Данные статистически достоверны.

Таблица 5

**ИЗУЧЕНИЕ 1% РАСТВОРА ЭВКАЛИМИНА НА МОДЕЛИ
ГНОЙНОЙ ЯЗВЫ (в сравнении с 1% раствором хлорофиллипта)**

№ группы	ЛЕЧЕНИЕ		n	S мм ²	СРОКИ ЗАЖИВЛЕНИЯ		
	Препарат	Способ разведения			Сутки	P (к)	P (хл)
1	Эвкалимин (1% р-р)	1:5 0,25% р-ром новокаина	7	577,1	13,3± 1,91	<0,01	<0,05
2	Эвкалимин (1% р-р)	1:5 изотоническим р-ром	9	591,9	13,8 ± 1,8	<0,01	-
3	Хлорофил- липт (1% р-р)	1:5 0,25% р-ром новокаина	9	653,8	15,4± 1,41	>0,1	-
4	Контроль за- ражения	без лечения	7	647,7	16,3± 0,57	-	-

P (к) - в сравнении с контролем без лечения; P (хл) - в сравнении с хлорофиллиптом

На модели экспериментального вагинита белых крыс химиотерапевтическое изучение эффективности эвкалимина проводили в виде детской лекарственной формы (суппозитории, содержащие 0,03г эвкалимина). В качестве препарата сравнения применяли 2% масляный

раствор хлорофиллипта. Для инфицирования использовали клинический штамм *St.aureus* 291, выделенный от больного и обладающий устойчивостью к ампициллину и цефалексину (ЦКИБ №1), для которого в предварительных исследованиях определили вирулентность для белых беспородных мышей весом 14-16г путем внутрибрюшинного введения им взвеси суточной агаровой культуры в количестве 200 тыс., 400 тыс., 600 тыс., 800 тыс. и 1 млрд. микробных тел на мышь в 1 мл 0,4% агара. Вагинит белых крыс вызывали у 35 половозрелых самок массой 250-300 г путем интравагинального заражения взвесью суточной культуры *St.aureus* 291 в дозе 1 млрд. микробных тел на крысу в 0,2 мл 0,4% голодного агара, что приводило к развитию явлений воспаления и отека наружных половых органов животного, сформировавшихся в течение первых 24-48 часов. Заражение контролировали путем асептических высевов из вагины на питательные среды (МПА и манитно-солевой агар). Лечение начинали через 48 часов после заражения и проводили один раз в сутки путем интравагинального введения животным первой группы - 4 мг эвкалимина в 0,2 мл расплавленного суппозитория, животным второй группы - 4 мг хлорофиллипта в 0,2 мл 2% масляного раствора хлорофиллипта. В качестве контроля заражения служила группа инфицированных животных без лечения. Высевы из вагины производили ежедневно перед введением очередной дозы препаратов. Химиотерапевтическую эффективность эвкалимина в суппозиториях на модели экспериментального вагинита белых крыс учитывали по срокам высеваемости стафилококка в процессе лечения. Исследования обоих препаратов в равных дозах показало (табл.6), что химиотерапевтическая эффективность эвкалимина (суппозитории для детей) выше химиотерапевтической активности хлорофиллипта (2% масляный раствор). Данные статистически достоверны.

Таблица 6

ИССЛЕДОВАНИЕ СУППОЗИТОРИЕВ ЭВКАЛИМИНА НА МОДЕЛИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВАГИНИТА

№ гру ппы	ЛЕЧЕНИЕ	Доза препа- рата, мг/крыс у	n	Длительность высеваемости	P _к	P _{хл}
1	Эвкалимин (суппозитории для детей)	4	15	$2,7 \pm 0,5$	<0,001	<0,01
2	Хлорофиллипт (масляный р-р)	4	10	$4,5 \pm 1,0$	<0,02	-
3	Контроль без лечения	-	10	$6,0 \pm 0,6$	-	-

Таким образом, изучение эвкалимина на экспериментальных моделях локализованных инфекций (инфицированная рана, гнойная язва и стафилококковый вагинит) показало, что эвкалимин оказывает значительное статистически достоверное химиотерапевтическое действие при лечении стафилококковых инфекций, в том числе вызываемых полирезистентным клиническим штаммом возбудителя. Выявлено преимущество эвкалимина в сравнении с хлорофиллиптом как по срокам излечения, так и по срокам высеваемости.

Клинические исследования эвкалимина (в лекарственных формах 1% и 0,25% спиртовые растворы, ректальные и вагинальные суппозитории по 0,05 г, а также суппозитории для детей по 0,03 г) на 1572 больных в возрасте от 1 года до 80 лет в 22 клинических учреждениях показали хорошую переносимость препарата, отсутствие местнораздражающих, аллергизирующих и общетоксических проявлений и высокий лечебный эффект, не уступающий современным лекарственным средствам (ампициллин, фурациллин, хлоргексидин, диоксидин и др.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического опыта эффекта // Л. - 1963.
2. Вичканова С.А. Ингибиторы микроорганизмов среди природных веществ растительного происхождения // Дисс.докт.- М.- 1981.
3. Вичканова С.А., Изосимова С.Б. Экспериментальные локализованные инфекционные модели для изучения антимикробных препаратов растительного происхождения. // Фитонциды.-«Наукова думка», Киев.-1985.
4. Изосимова С.Б. Химиотерапевтическое изучение донелвина и некоторых других растительных хинонов при экспериментальных бактериальных инфекциях // Автореф. дис.канд.- 1982.
5. Крутикова Н.М. Эвкалимин – новый растительный препарат антибактериального действия. // Дисс. ... канд.биол.наук., Москва.-1997. – 120 с.
6. Навашин С.М., Сазыкин Ю.О. Молекулярные основы современной антибиотикотерапии // Антибиотики и химиотерапия.- 1988.- Т. XXXIII.- №1.- с.3-12.
7. Навашин С.М., Навашин П.С. Проблемы и перспективы химиотерапии бактериальных инфекций// Антибиотики и химиотерапия.- 1990.- Т.35.- № 10.- с. 3-6.
8. Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии.- М.-1971.
9. Покровский В.И., Семина Н.А., Фомина И.П., Гладкова К.К. и др. Эпидемиологический надзор за лекарственной устойчивостью основных возбудителей инфекционно-

воспалительных заболеваний и тактика антибактериальной терапии (метод.руков.).- М.- 1991.

10. Шнитцер Р., Грунберг Э. Устойчивость микроорганизмов к лекарственным веществам.- М.-1960.
11. Яковлев В.П. Антибактериальная химиотерапия в неинфекционной клинике: новые бета-лактамы, монобактамы и хинолоны // Итоги науки и техники.- Сер. Фармакология. Химиотерапевтические средства.- М.- 1992- Т. 20.- с. 204.

ÊRUTIKOVA N.M., VICHKANOVA S.A.

STUDY OF ANTIBACTERIAL PROPERTIES EUCALIMIN IN LIGHT THE MODERN APPROACH TO ANTIMICROBIAL DRUGS

Eucalimin- antibacterial and resolvent obtained from an Eucalyptus viminalis Labill. (Myrtaceae). Eucalimin has a wide spectrum of antibacterial activity, including concerning modern clinical stains of bacteria possessing mono- and a polyresistance to used now antibiotics. Eucalimin does not call development of a resistance at pathogen bacteria. The drug is allowed to application in medical practice and quality antibacterial and resolvent.

ВИЧКАНОВА С.А., КРУТИКОВА Н.М.
ВИЛАР, Москва, Россия

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭВКАЛИМИНА В КАЧЕСТВЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА ОБЩЕРЕЗОРБТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ

Проблема лечения больных с инфекциями и инфекционными осложнениями, несмотря на значительные достижения антибактериальной химиотерапии, остается актуальной. К числу основных причин следует отнести изменение в видовом составе возбудителей инфекции и широкое распространение моно- и полирезистентных микроорганизмов (13). Продолжается интенсивный поиск новых антибактериальных средств среди химиотерапевтических препаратов синтетического и природного происхождения, продуцентами для которых являются, в основном, низшие растения (8).

Недостаточное внимание до сих пор уделяется антимикробным лечебным средствам, получаемым из высших растений. Эта группа ингибиторов микроорганизмов характеризуется, с одной стороны, отсутствием быстрого формирования к ним лекарственной резистентности и, с другой стороны, активностью в отношении микроорганизмов, обладающих моно- и полирезистентностью к современным антибактериальным средствам (1,2,7). Многолетние исследования, проводимые во ВНИИ лекарственных и ароматических растений, связанные с изучением свойств *Eucalyptus viminalis* Labill., показали перспективность применения эвкалипта прутовидного в медицине (3,4). На основе этого растения разработан новый оригинальный отечественный препарат антибактериального и противовоспалительного действия - ЭВКАЛИМИН, представляющий собой очищенную сумму терпеноидных альдегидофенолов (эуглобaley) и тритерпеноидов (11,12).

Эвкалимин активен в отношении стафилококков, стрептококков, энтерококков, возбудителя дифтерии, спорообразующих бактерий, туберкулезных микобактерий, кандиды и др., в том числе в отношении антибиотикорезистентных форм микроорганизмов. К эвкалимину не развивается устойчивости микроорганизмов. Эвкалимин стимулирует Т-клеточный иммунитет и индукцию интерферона, оказывает противовоспалительное и противоотечное действие (9,10).

Ранее эвкалимин в виде 1% и 0,25% спиртовых растворов был разрешен для применения в медицинской практике в качестве антибактериального средства у взрослых и детей при заболеваниях верхних дыхательных путей, в отоларингологии, стоматологии, хирургии, дерматологии и гинекологии.

Многолетние исследования, проводимые в институте, связанные с изучением свойств эвкалимина, привели к созданию его новых лекарственных форм общерезорбтивного действия: для взрослых - суппозиториев ректальных с эвкалимином 0,05 г и суппозиториев вагинальных с эвкалимином 0,05 г, а также детской лекарственной формы - суппозиториев с эвкалимином по 0,03 г.

Эффективность и безопасность суппозиториев с эвкалимином у взрослых проводили в 6 ведущих клинических учреждениях: МОНИИАГ, ЦКБ МЗ РФ, кафедра акушерства и гинекологии ММСИ им. Н.А.Семашко, Институт проктологии МЗ РФ, Московский проктологический центр - ГКБ №24, клиника урологии ММСИ им. Н.А.Семашко).

При применении ректальных и вагинальных суппозиториев с эвкалимином в дозе 0,05 г на 339 взрослых больных установлена его значительная терапевтическая эффективность. Так, при лечении 180 больных женщин в возрасте от 18 до 70 лет при клинически выраженных воспалительных процессах влагалища, шейки матки, тела матки, придатков и клетчатки малого таза одновременное применение суппозиториев с эвкалимином *per vaginum* и *per res-*

tum приводило к быстрому стиханию воспалительных процессов, уменьшению болей в пояснице, выделений, зуда, отечности, гиперемии, улучшению степени чистоты влагалища с IV до I и II степени, подтвержденному бактериологическими исследованиями. Таким образом, клиническое изучение показало, что эвкалимин в лекарственной форме суппозитории по 0,05г является эффективным препаратом при лечении острых и хронических гнойно-воспалительных заболеваний, таких как неспецифический острый и хронический кольпит, эндоцервицит, острый вульвовагинит, эрозии шейки матки и обострение хронического сальпингоофорита, в том числе осложненных геморроем и трещинами anus (МОНИИАГ, ЦКБ МЗ РФ, кафедра акушерства и гинекологии ММСИ им. Н.А.Семашко).

Применение суппозиториев с эвкалимином у 63 больных проктологического профиля приводило к уменьшению болевого синдрома и воспалительных явлений (наличие крови, слизи), а при оперативных вмешательствах (иссечение анальных трещин и др.) к значительному улучшению состояния раны, активной эпителизации, очищению от налетов и др. (Институт проктологии МЗ РФ, Московский проктологический центр - ГКБ №24).

Применение в урологической практике суппозиториев с эвкалимином (ректально и/или вагинально) у 96 взрослых больных с острыми и хроническими заболеваниями мочевыводящих и мочеполовых путей (хронический простатит, острый цистит, вульвовагинит, везикулит и др.) с наличием патогенной микрофлоры, приводило к нормализации микробного числа мочи, уменьшению болевого синдрома, уменьшению дизурии при острых циститах в 100% случаев. К 7-8 дню от начала лечения отмечалось значительное улучшение состояния (уменьшение клинических признаков воспалительного процесса, отрицательные результаты посевов мочи на микрофлору) и к 10-15 дню - практически полное выздоровление. Особенно высокую эффективность клиницисты отмечали при применении суппозиториев с эвкалимином в комплексе предоперационной подготовки у больных с пузырно-влагалищными свищами и развившимися, в результате этого, тяжелыми вульвовагинитами (клиника урологии ММСИ им. Н.А.Семашко).

Обращает на себя внимание тот факт, что 80% больных с хроническими воспалительными процессами ранее получали длительную, но малоэффективную в данном случае, антибактериальную терапию антибиотиками, уросептиками, местными средствами. В числе достоинств эвкалимина большинство клиницистов отмечают, наряду с выраженными противобактериальными, в том числе в отношении антибиотикорезистентной флоры, свойствами препарата, наличие у него противовоспалительного и противоотечного эффекта, что в значительной степени перекликается с данными доклинического экспериментального исследования. Показана также хорошая переносимость эвкалимина, отсутствие при его использовании аллергических, местнораздражающих и побочных эффектов как общего, так и местного дей-

ствия. К числу преимуществ эвкалимина следует отнести и возможность его применения у беременных женщин во все сроки беременности, включая период подготовки к родам, с целью профилактики послеродовых инфекционных осложнений, как у роженицы, так и у новорожденного. На основании положительных результатов, полученных при клинических испытаниях суппозиториев с эвкалимином по 0,05г у взрослых, было разрешено их применение в медицинской практике в качестве лечебно-профилактического средства антимикробного и противовоспалительного действия в гинекологии, урологии и проктологии.

На основании представленных ВИЛАР дополнительных материалов (НТД и данных экспериментальных доклинических исследований) Фармакологическим Государственным Комитетом Минздрава России разрешены (протокол №17 от 10.11.94) клинические испытания эвкалимина у детей в новой лекарственной форме «Суппозитории с эвкалимином 0,03 г для детей», в том числе в сочетании с ранее разрешенным 1% раствором эвкалимина в качестве антибактериального и противовоспалительного средства.

В клинических исследованиях принимало участие 6 лечебных учреждений (табл. 1), назначенных ФГК МЗ России: Кафедра кожных и венерических болезней Российского Государственного Медицинского Университета (РГМУ), зав. Кафедрой академик РАМН Ю.К.Скрипкин. Исследования проведены на базе Детской Городской Инфекционной Больницы №8 (ДГИБ №8); Инфекционная Клиническая больница №1 (ИКБ №1), главный врач больницы – Главный инфекционист Комитета Здравоохранения Москвы Н.А.Малышев (исследования проведены в Отделении дифтерии - №2); Измайловская Детская Городская Клиническая больница г. Москвы (Измайловская ДГКБ), главный врач – Заслуженный врач РФ, профессор В.И.Садовников (исследования проведены в Отделении гинекологии); Детская Городская Клиническая больница №9 им. Г.Н.Сперанского (ДГКБ №9 им. Г.Н.Сперанского), главный врач – Заслуженный врач РФ, кандидат медицинских наук П.П.Продеев. Исследования проведены в 3 отделениях: 2-ое ЛОР-Отделение, Отделение гастроэнтерологии, Отделение нефрологии.

В соответствии с программой клинических испытаний в задачи исследования входило: определение переносимости «Суппозиториев с эвкалимином 0,03 г для детей» у больных детского возраста; определение терапевтической эффективности эвкалимина при ряде гнойно-воспалительных заболеваний, вызванных бактериальной флорой у детей; определение оптимальных суточных и курсовых доз у пациентов детского возраста;

Таблица 1.

ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ ПРИ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ЭВКАЛИМИНА В ПЕДИАТРИИ

Место исследования (стационар)	Нозологии	n, âîçďàñò	Лекарственные формы эвкалимина
1. Кафедра кожных и венерических болезней РГМУ (на базе ДГИБ №8) Зав. кафедрой – академик РАМН Ю.К.Скрипкин	Пиодермиты	70 1-15 лет	Суппозитории с эвкалимином 0,03 для детей + 1% раствор эвкалимина
2. Отделение дифтерии ИКБ №1 Главный врач - главный инфекционист Комитета Здравоохранения г. Москвы, Кандидат медицинских наук Н.А.Малышев	Реконвалесцентное бактерионосительство, здоровые бактериовыделители токсигенных дифтерийных коринобактерий (Cd tox ⁺)	28 3-15 лет	Суппозитории с эвкалимином 0,03 для детей + 1% раствор эвкалимина
3. Отделение гинекологии Измайловской ДГКБ Главный врач, заслуженный врач РФ, профессор В.И.Садовников	Хронические неспецифические вольвовагиниты	102 4-9 лет	Суппозитории с эвкалимином 0,03 для детей + 1% раствор эвкалимина
4. ДГКБ №9 им. Г.Н.Сперанского Главный врач – заслуженный врач РФ кандидат медицинских наук П.П.Продеус	Острые и хронические гаймориты, паратонзиллярные абсцессы	70 6-14 лет	Суппозитории с эвкалимином 0,03 для детей + 1% раствор эвкалимина
	Циститы, вульвовагиниты, в т.ч. осложненные проктосигмоидитом, колитом, дисбактериозом	78 4-14 лет	Суппозитории с эвкалимином 0,03 для детей
	Заболевания нижних отделов ЖКТ: проктит, проктосигмоидит, дисбактериоз	89 1-15 лет	Суппозитории с эвкалимином 0,03 для детей

разработка рекомендаций по эвкалимину при лечении каждой нозологии для включения в инструкцию по его применению в медицинской педиатрической практике.

Эффективность и переносимость эвкалимина в новой лекарственной форме – «Суппозитории с эвкалимином 0,03 г для детей», примененных изолированно или в комплексе с раствором эвкалимина, разрешенным ранее, изучены у 437 стационарных больных детского возраста (1-15 лет).

В соответствии с программой клинических испытаний и с учетом основных фармако-терапевтических свойств эвкалимина как антибактериального и противовоспалительного средства при ранее разрешенных показаниях, эвкалимин изучали в качестве препарата лечебно-профилактического действия при различных острых и хронических гнойно-воспалительных процессах, в том числе кожи, слизистых оболочек и мягких тканей, при заболеваниях верхних дыхательных путей и ЛОР-органов, гнойничковых поражениях кожи, хронических неспецифических вульвовагинитах, циститах, при заболеваниях и осложнениях нижних отделов ЖКТ (проктосигмоидиты, проктиты, дисбактериоз и др.), а также в целях санации бактериовыделителей токсигенных дифтерийных коринобактерий ($Cd\ tox^+$).

Клиническими учреждениями отмечена хорошая переносимость эвкалимина в обеих лекарственных формах: ни в одном случае не выявлены местнораздражающие и общетоксические проявления, в том числе аллергизирующего характера.

Наряду с хорошей переносимостью и отсутствием токсических проявлений все 6 клинических учреждений отмечают высокую эффективность препарата, примененного в виде монотерапии (табл. 2).

Таблица 2

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ДИНАМИКА ВЫЗДОРОВЛЕНИЯ ДЕТЕЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭВКАЛИМИНОМ

НОЗОЛОГИЯ	ЛЕЧЕНИЕ, ГРУППА	n	СКОРОСТЬ ВЫЗДОРОВ- ЛЕНИЯ, сутки ($M \pm m$)	P
1	2	3	4	5
Пиодермиты: • <i>Стрептококко- вое импетиго</i> • <i>Фурункулез</i>	1. Эвкалимин -монотерапия (суппозитории + раствор) 2. Эвкалимин-монотерапия (раствор) Контроль - традиционное лечение (препараты серы + анилиновые красители)	13	$6,0 \pm 0,82$ $8,5 \pm 2,03$; $12,5 \pm 0,92$	<0,001
	1. Эвкалимин -монотерапия (суппозитории + раствор) 2. Эвкалимин-монотерапия (раствор)	21	$14,3 \pm 0,63$ $16,1 \pm 0,95$	<0,001

<ul style="list-style-type: none"> Атопический дерматит, осложненный стрепто-стафилодермией Вульгарные угри 	Контрольная группа - традиционное лечение (препараты серы + анилиновые красители)		$19,6 \pm 0,45$	
	1. Эвкалимин -монотерапия (суппозитории + раствор)	11	$12,25 \pm 1,34$	<0,001
	2. Эвкалимин-монотерапия (раствор)		$14,5 \pm 1,84$	
	3. Контроль - традиционное лечение (препараты серы + анилиновые красители)		$18,3 \pm 1,89$	
	1. Эвкалимин -монотерапия (суппозитории + раствор)	25	$29,0 \pm 0,81$	<0,001
	2. Эвкалимин-монотерапия (раствор)		$32,2 \pm 1,1$	
	3. Контрольная группа - традиционное лечение (препараты серы + анилиновые красители)		$37,8 \pm 0,68$	
Бактериовыделение дифтерийных токсигенных коринобактерий (Cd tox ⁺)	1. Эвкалимин -монотерапия (суппозитории + раствор)	21	$10,6 \pm 1,62$	<0,001
	2.Контроль: Антибиотики (2-3 курса) + Эвкалимин (1-2 курса)	5	$18,2 \pm 4,75$	
Гнойно-воспалительные заболевания ЛОР-органов: <ul style="list-style-type: none"> Гайморит 	1. Эвкалимин - монотерапия (суппозитории + раствор)	20	$9,3 \pm 1,0$	> 0,05
	2. Антибиотикотерапия (ампициллин + 1% раствор диоксидина, или нафтизина)	20	$9,5 \pm 0,2$	
<ul style="list-style-type: none"> Паратонзиллярный абсцесс 	1. Эвкалимин - монотерапия (супп,озитории + раствор)	15	$6,3 \pm 1,3$	> 0,05
	2. Антибиотикотерапия (ампициллин + 1% раствор диоксидина, или нафтизина)	15	$6,4 \pm 1,4$	
Вульвовагиниты, циститы Неспецифический вульвовагинит	1. Эвкалимин -монотерапия (суппозитории + раствор)	56	$6,1 \pm 0,43$	<0,01
	2. Традиционная терапия	46	$7,2 \pm 0,67$	

	(фуразолидон, фурацилин)			
<i>Вульвовагинит</i>	1. Эвкалимин -монотерапия (суппозитории + раствор) 2. Традиционная терапия (фурагин, 5-НОК, цефалоспорины)	40	$4,9 \pm 1,14$ $8,5 \pm 2,07$	$<0,01$
<i>Цистит</i>	1. Эвкалимин -монотерапия (суппозитории + раствор) 2. Традиционная терапия (фурагин, 5-НОК, цефалоспорины)	38	$8,0 \pm 0,83$ $11,9 \pm 1,29$	$<0,01$
в т.ч. осложненные формы:				
• Прокто сигмоидит	1. Эвкалимин -монотерапия (супп.озитории + раствор) 2. Традиционная терапия (фурагин, 5-НОК, цефалоспорины)	24	$11,8 \pm 0,92$ $14,6 \pm 0,86$	$<0,01$
• Дисбактериоз	1. Эвкалимин -монотерапия (супп.озитории + раствор) 2. Традиционная терапия (фурагин, 5-НОК, цефалоспорины)	17	$13,9 \pm 1,4$ $16,4 \pm 1,36$	$<0,002$
Воспалительные за- болевания нижних отделов ЖКТ: ■ проктосигмоидит ■ проктит ■ дисбактериоз	1. Эвкалимин -монотерапия (суппозитории ректально) 2. Традиционная терапия	74 13	$10,45 \pm 0,82$ $14,62 \pm 2,29$	$<0,001$

Так, на кафедре кожных и венерических болезней РГМУ при проведении клинических исследований на 70 больных детского возраста с гнойничковыми поражениями кожи (фурункулез, стрептококковое импетиго, вульгарные угри, атопический дерматит, осложненный стрептостафи-лодермией) показано, что монотерапия эвкалимином в виде суппозиторий, вводимых ректально в сочетании с 1% раствором эвкалимина, наносимым местно на очаг поражения, приводит к более быстрому, статистически достоверному, лечебному эффекту (регресс высыпаний, отсутствие свежих проявлений, улучшение самочувствия) как по сравнению с местным применением раствора эвкалимина, так и по сравнению с традиционными средствами, используемыми при лечении пиодермитов у детей.

Большой интерес представляют исследования, проведенные в отделении дифтерии (№2) ИКБ №1, где эвкалимином лечили 28 пациентов детского возраста, являющихся бактериовыделителями токсигенной дифтерийной коринобактерии ($Cd\ tox^+$). Среди них были дети, перенесшие дифтерию (субтоксическая дифтерия ротоглотки, локализованная дифтерия) или бактериовыделители токсигенной дифтерийной палочки ($Cd\ tox^+$) без клинических признаков заболевания. После одного курса монотерапии эвкалимином санирование было достигнуто практически у половины больных, в то время как в контрольной группе (традиционное применение антибиотиков: рифампицина и др.) ни у одного больного не исчезли токсигенные коринобактерии. После двух курсов монотерапии эвкалимином было достигнуто санирование 100% пациентов. В контрольной группе, где после неэффективного первого курса антибиотиками был подключен эвкалимин, равнозначный эффект санирования (100%) был достигнут после двух курсов его применения.

Заслуживают внимания данные, полученные в ДГКБ №9 им. Г.Н.Сперанского у отоларингологических больных. При применении суппозитория с эвкалимином для детей по 0,03г в сочетании с 1% спиртовым раствором эвкалимина, разведенным 1:10-1:20, у 70 послеоперационных пациентов детского возраста с острым и хроническим гайморитом, паратонзиллярным абсцессом и др. показано, что эвкалимин по своей эффективности не уступает традиционно используемому ампициллину (в/м) в сочетании с 1% раствором диоксида, или 0,5% раствором нафтизина (местно) и может быть средством монотерапии гнойно-воспалительных заболеваний ЛОР-органов или препаратом выбора при данной патологии.

Не менее важные результаты получены в отделении гинекологии детей и подростков (102 девочки) Измайловской ДКБ, где использовали сочетание интравагинального введения суппозитория с эвкалимином по 0,03г со спринцеваниями 0,02% раствором эвкалимина. Выявлено достоверное преимущество в лечебном эффекте эвкалимина в данных лекарственных формах по сравнению с контрольной группой больных, леченных препаратами нитрофуранового ряда (суппозитории с фуразолидоном 0,05г и спринцевание 0,02% раствором фурацилина).

Клиническое изучение эвкалимина у 152 больных детского возраста при воспалительных заболеваниях нижних отделов желудочно-кишечного тракта (проктосигмоидит, проктит, дисбактериоз) и мочевыводящих путей (циститы, в т.ч. осложненные) в отделениях гастроэнтерологии и нефрологии

ДГКБ №9 им. Г.Н.Сперанского показало, что ректальное и/или вагинальное введение этим больным суппозитория с эвкалимином по 0,03г приводило в 90-100 % случаев к положительному эффекту при данной патологии, статистически достоверному по сравнению с традиционным лечением (цефалоспорины, 5-НОК, нитрофураны).

Все 6 клинических учреждений рекомендовали суппозитории с эвкалимином (ректальное и/или вагинальное введение) в виде монотерапии (в том числе, по показаниям, в сочетании с местным применением растворов эвкалимина) для использования в педиатрии в качестве антимикробного средства антибактериального и противовоспалительного действия. Одновременно клиницисты отмечали удобство применения данной лекарственной формы - суппозитория с эвкалимином - в качестве антимикробного средства общерезорбтивного действия, особенно у детей младшего возраста, по сравнению с таблетками и инъекционными формами антибактериальных препаратов (5,6).

На основании положительных результатов, полученных при клинических испытаниях суппозитория с эвкалимином по 0,05 г для детей было разрешено их применение в качестве антибактериального и противовоспалительного лечебно-профилактического средства в педиатрии.

Эвкалимин применяют у взрослых и детей в качестве антибактериального и противовоспалительного лечебно-профилактического средства при различных острых и хронических гнойно-воспалительных процессах, в том числе при заболеваниях верхних дыхательных путей и ЛОР-органов, в хирургии, стоматологии, дерматологии, гинекологии, урологии и проктологии, а также для санации бактериовыделителей токсигенной дифтерийной палочки, как в период реконвалесценции дифтерии, так и у практически здоровых бактерионосителей Cd tox+.

Эвкалимин применяют ингаляционно, местно, ректально, интравагинально.

Для ингаляционного введения используют 1% раствор эвкалимина, разведенный в соотношении 1:10 (для взрослых) и 1:20 (для детей) стерильной дистиллированной водой. Эти же растворы используют для орошений, спринцеваний, промываний, компрессов, примочек и т.п.

Местно применяют 1% раствор эвкалимина непосредственно на очаг поражения (смазывание, пропитывание салфеток для наложения на рану).

Суппозитории с эвкалимином применяют *per rectum* и/или *per vaginum* у взрослых - по 0,05 г 1-3 раза в сутки, у детей - по 0,03 г в зависимости от возраста: до 3 лет - 1/2 суппозитория 2 раза в сутки; от 3 до 7 лет - 1 суппозиторий 2 раза в сутки; детям школьного возраста - до 3 суппозитория в сутки.

Длительность применения суппозитория зависит от нозологической формы и тяжести заболевания.

Для санации бактериовыделителей токсигенной дифтерийной палочки (Cd tox+) 1% раствор, разведенный 1:20, используют для орошения ротоглотки (по 2 мл 1 раз в сутки) и

капель в нос (по 2 капли в каждый носовой ход 3 раза в день). Одновременно вводят суппозитории в возрастных дозировках. Длительность санации 1-2 недели.

При острых и хронических гнойно-воспалительных заболеваниях верхних дыхательных путей и ЛОР-органов (ларингит, фаринголарингит, ангины, до и после интубационного наркоза, после различных эндоларингеальных хирургических вмешательств и т.п.) разведенные растворы эвкалимина применяют в виде ингаляций ежедневно по 10 минут в течение 3-7 дней (одновременно вводят капли в нос по показаниям) до полного исчезновения катаральных явлений. Для санации больных с хроническими заболеваниями носоглотки и придаточных пазух растворы эвкалимина закапывают по 2-3 капли в каждый носовой ход в сочетании с распылением его в полости глотки по 2 мл в сутки в течение 3 недель. Одновременно назначают суппозитории с эвкалимином в возрастных дозировках, при этом длительность применения суппозиторий не менее 7 суток.

В хирургии при хронической гнойной инфекции (инфильтраты, лимфангоиты, гидрадениты, опрелости, пролежни и др.) используют 1% раствор эвкалимина для смазывания очага поражения или в разведенном виде для компрессов, повязок и др. При острых гнойно-воспалительных процессах после вскрытия гнойного очага растворы эвкалимина используют для промываний, орошений и др. При санации плевральной полости после промывания можно оставить в полости до 500 мл раствора эвкалимина на 24 часа. Курс лечения 10-12 дней.

В стоматологии при болезнях пародонта и для лечебно-профилактической обработки послеоперационных ран применяют разведенные растворы эвкалимина для полоскания, орошения пародонтальных карманов, введения турунд 3-4 раза в день, а на десневой край - на ватных тампонах 1 раз в день на 15-20 минут.

При первичных и вторичных пиодермитах, ссадинах, расчесах 1% раствором эвкалимина смазывают очаги поражения 3-6 раз в день. Количество процедур и длительность применения зависят от формы и тяжести заболевания (от нескольких дней до нескольких недель). Возможны повторные курсы лечения. При пиодермитах у детей одновременно назначают суппозитории по 0,03 г *per rectum* в возрастных дозировках с длительностью курса лечения в зависимости от нозологии.

В гинекологической практике суппозитории эвкалимина применяют вагинально и ректально. Процедуры проводят ежедневно, исключая дни менструаций. Курс лечения от 5-10 до 20-25 процедур. Возможны повторные курсы лечения. При остром и подостром течении эндометрита и сальпингоофорита, при необходимости, эвкалимин можно применять в сочетании с антибиотиками.

У больных детского возраста при неспецифических вульвовагинитах проводят орошение (спринцевание) влагалища раствором эвкалимина, разведенным 1:50, ежедневно 1 раз в сутки, по 50 мл раствора на процедуру. Одновременно больным детям вводят интравагинально и ректально суппозитории с эвкалимином по 0,03 г в возрастных дозировках. Курс лечения до 10 дней.

В урологической практике взрослым больным суппозитории по 0,05 г вводят ректально и/или интравагинально ежедневно 1-3 раза в сутки. Курс лечения 10-15 дней и более, в зависимости от характера заболевания. Больным детского возраста с циститом суппозитории по 0,03 г вводят *per rectum* в возрастных дозировках. Продолжительность лечения - 10-14 дней, при упорных циститах - до 3 недель.

В проктологии взрослым больным применяют суппозитории по 0,05 г 1-3 раза в сутки ежедневно в течение 1-4 недели в зависимости от формы и течения заболевания. Больным детского возраста с заболеваниями нижних отделов ЖКТ суппозитории с эвкалимином по 0,03 г вводят *per rectum* в возрастных дозировках с продолжительностью курса лечения: при дисбактериозах - до 2-3 недель, при колитах, проктосигмоидитах и проктитах - до 3 недель. Возможны повторные курсы лечения после консультации с врачом.

Преимуществами ЭВКАЛИМИНА является его хорошая переносимость и высокая эффективность у детей и взрослых, наличие противовоспалительного и противоотечного эффекта, отсутствие алергизирующих свойств, возможность применения у беременных женщин, с целью профилактики послеродовых инфекционных осложнений, как у роженицы, так и у новорожденного.

ЛІТЕРАТУРА

1. Быков В.А., Вичканова С.А., Шипулина Л.Д., Адгина В.В. Антимикробные и противовирусные средства из растительного сырья, особенности и перспективы применения в медицинской практике. //Первый Российский Национальный конгресс «Человек и лекарство».- Тез.докл.- М.- 1992.- с.285.
2. Вичканова С.А. Ингибиторы микроорганизмов среди природных веществ растительного происхождения. // Дисс. докт.- М.- 1981.
3. Вичканова С.А., Алешинская Э.Е., Рубинчик М.А., Адгина В.В., Молодожников М.М. Данные экспериментального изучения эвкалипта прутовидного. / Лекарств. Раст. //Фармакология и химиотерапия.- 1971.-14.-с. 200-204.

4. Вичканова С.А., Изосимова С.Б., Джанашия Н.М. Изучение бактериостатического действия некоторых видов эвкалиптов в отношении *Staphylococcus aureus*/ //Мат. Всес. научн. конф. по фарм. и клин. изучению лек. препаратов из растений.- М.-1970.-М.-1972.- с.228-231.
5. Вичканова С.А., Крутикова Н.М. Применение эвкалимина в клинике.// В кн.: V Российский Национальный конгресс «Человек и лекарство».- Тез. докл.- М.- 1998.- с.356.
6. Вичканова С.А., Крутикова Н.М. Эффективность эвкалимина в клинике. //Практическая фитотерапия.- 1998.- №1.-с.12-14.
7. Глызин В.И., Вичканова С.А., Колхир В.К., Сокольская Т.А., Основные разработки лекарственных растительных препаратов, их клиническая эффективность и место в современной медицине. // Третий Российский Национальный конгресс «Человек и лекарство».- Тез.докл.- М.- 1995.
8. Дудник Ю.В. Создание новых антибиотиков. Проблемы и перспективы. //Антибиотики и химиотерапия.-1989.- Т.34, №11, с.807-810.
9. Крутикова Н.М. Эвкалимин – новый растительный препарат антибактериального действия. // Дис. ...канд биол.наук.- М. - 1997.- 120 с.
10. Крутикова Н.М., Вичканова С.А., Габриэлян Н.И.,Корженкова М.П.,Гришина И.А.,Абрамова З.И. Изучение эффективности эвкалимина в отношении антибиотикорезистентных штаммов патогенных микроорганизмов. // В кн.: 1 Международный научный конгресс «Традиционная медицина и питание: теоретические и практические аспекты», тез. докл., М., 1993, с.170.
11. Савина А.А., Цыбулько Н.С., Глызин В.И., Ласская О.А., Шипулина Л.Д., Вичканова С.А., Алгина В.В., Крутикова Н.М., Богачева Н.Г., Вандышев В.В., Сокольская Т.А., Баджелидзе Л.С. Способ получения препарата эвкалимин. // Патент на изобретение №2032414 с приоритетом от 21 июля 1992 г. Заявка №5055699. Зарегистровано в Государственном реестре изобретений 10 апреля 1995 г.
12. Сокольская Т.А., Савина А.А., Глызин В.И., Прибылова Г.Ф., Либизова Л.Ф.,Вичканова Л.Д., Вичканова С.А., Крутикова Н.М., Вандышев В.В. Способ получения вещества «эвкалимин» обладающего антимикробной и противовирусной активностью. //Патент на изобретение №1438042 с приоритетом изобретения от 18 апреля 1986 г. Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений 3 февраля 1993 г.
13. Яковлев В.П. Антибактериальная химиотерапия в неинфекционной клинике: новые беталактамы, монобактамы и хинолоны. // Итоги науки и техники.- Сер. Фармакология. Химиотерапевтические средства.-М.-1992.-Т.20.-с.204

Vichkanova S.A., Krutikova N.M.

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

CLINICAL EFFECTIVENESS EUCALIMIN AS ANTIBACTERIAL AND RESOLVENT OF GENERAL OPERATION

Eucalimin - antibacterial and resolvent obtained from an eucalyptus. The high performance and safety of eucalimin is shown at clinical study. Eucalimin apply at the adult and children as antibacterial and resolvent treatment-and-prophylactic tools at various acute and chronic purulent - inflammatory processes, including at diseases of the upper respiratory paths and ËÏÐ-ORGANS, in surgery, odontology, dermatology, gynaecology, urology and proctology, and also for sanation of diphtheriaphor both during a reconvalence diphtheria, and at practically healthy carriage Cd tox+.

САКОВИЧ Г.С., КОЛХИР В.К., ЕНЮТИНА Е.Ю., ШКАРЕНКОВ А.А., СТИХИН В.А., АЛИБЕКОВ С.Д., ОМЕЛЬНИЦКИЙ П.П., БАГИНСКАЯ А.И., СЕНИНА Т.А., ТРУМПЕ Т.Е., БОРОВКОВА М.В., ГЛАЗОВА Н.Г., ЛЕСКОВА Т.Е.

ВИЛАР, Москва, Россия

РАЗРАБОТКА ЭСТИФАНА, ПРЕПАРАТА ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ИЗ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ.

ВВЕДЕНИЕ. ЛИТЕРАТУРНАЯ СПРАВКА.

С середины 20-го века начала активно развиваться молодая наука иммунология. Поворотным моментом в ее формировании стали 50-60-е годы, когда было признано, что основным клеточным элементом иммунной системы является лимфоцит. Наиболее плодотворными для иммунологии стали 60-70-е годы, когда на основании многочисленных экспериментальных исследований было сформулировано определение иммунной системы как "совокупности взаимодействующих клеток: лимфоцитов, макрофагов, ряда сходных с макрофагами клеток селезенки, организованных в тканевые и органые структуры". Центральными органами иммунной системы признаны костный мозг и тимус, периферическими - селезенка, лимфатические узлы, пейеровы бляшки кишечника, миндалины [1]. С внедрением специфических иммунологических методов исследования в медицинскую практику, созданием клинической иммунологии начали существенно меняться представления о причинах и особенностях патогенеза многих заболеваний. Так, было установлено, что аллергии, некоторые виды анемии, заболеваний щитовидной железы, многие хронические воспалительные заболевания, папилломатоз и многие другие являются следствием нарушений в иммунной системе. Соответственно, начали меняться и подходы к выбору методов лечения заболеваний и направления поиска новых лекарственных средств. Эпидемиологи-

ческие данные последних лет свидетельствуют о постоянно усиливающейся тенденции к росту числа заболеваний, связанных с недостаточной функцией иммунной системы, иммунодефицитами [2, 3]. Клиницисты называют следующие основные причины данной тенденции: отсутствие естественного отбора; широкое и не всегда оправданное применение антибиотиков и других химиотерапевтических средств; расширение ареала и интенсивности воздействия на человека неблагоприятных факторов внешней среды, обладающих иммунотоксическим действием. Параллельно с ослаблением иммунной системы наблюдается повышение агрессивности патогенных микроорганизмов и их устойчивости к широко используемым антибиотикам, развитие патогенных свойств у условно патогенных микроорганизмов, выявление за последние 20 лет тридцати новых видов болезнетворных микроорганизмов, в том числе нередко вызывающих летальные исходы [3]. Перечисленные факты обуславливают необходимость дальнейшего совершенствования стратегии лечения инфекционных заболеваний, активизации поиска средств, защищающих и стимулирующих иммунную систему.

В настоящее время в медицинской практике применяется целый ряд препаратов иммуностимулирующего действия, в том числе бактериальные полисахариды продиgioзан и пирогенал, экстракт костного мозга - миэлопид, экстракты тимуса (тималин, тимостимулин и др.), препараты синтетического происхождения (иммунофан, тимиген) и многие другие. Однако пока не отработаны стандартные принципы иммунокоррекции; в большинстве случаев врачи предпочитают иммуностимуляторы "мягкого" действия, особенно растительного происхождения, и в качестве восстанавливающих средств - витаминные комплексы [3]. Иммуномодулирующее действие найдено у ряда известных лекарственных растений: женьшеня, элеутерококка, ромашки аптечной, девясила высокого и многих других [4,5,6,7]. Выраженными иммуностимулирующими свойствами обладают 3 вида растений рода эхинацея (*Echinacea*: *E.purpurea*, *E.angustifolia* и *E. pallida* (пурпурная, урколистная, бледная). На их основе разработан ряд препаратов, которые считаются иммуностимуляторами "мягкого" корректирующего действия и применяются, главным образом, с целью профилактики и лечения хронических воспалительных заболеваний, а также в качестве дополнительной терапии инфекционных заболеваний, местно - в качестве средств, ускоряющих заживление ран. Для получения препаратов в США используют, главным образом, эхинацею урколистную и бледную, в Европе - преимущественно пурпурную (она введена в культуру около 50 лет назад). Препараты получают из разных частей эхинацеи с использованием различных методов извлечения активных субстанций [8].

Родина эхинацеи - Северная Америка. Эхинацея пурпурная впервые была найдена ботаниками в Вирджинии в 1690г, была описана в 1753г под названием *Rudbeckia purpurea*

Линнеем, позднее - Moench (под названием *Echinacea purpurea*). Североамериканские индейцы использовали это растение при укусах насекомых и змей, лихорадочных состояниях, а также для лечения ран. Белые поселенцы переняли это применение эхинацеи. В 1870г немец по происхождению Н.С.Ф. Мейер представил на рынок США первый препарат из эхинацеи под названием "Очиститель крови Мейера". Автор рекомендовал его при инфекционных заболеваниях (септических состояниях). В конце 19-го - начале 20-го века лекарственные средства на основе эхинацеи были очень популярны в США. В начале 20-го века все виды эхинацеи стали известны в Европе, они широко применялись в гомеопатии. В связи с внедрением в медицинскую практику в 1930г сульфаниламидов, а позднее - антибиотиков, с середины 60-х годов начался спад в применении препаратов эхинацеи. В 80-е годы, в связи с некоторым разочарованием в отношении антибиотиков и достижениями иммунологии, интерес к эхинацее возобновился. К этому времени имелся уже огромный багаж информации об этом растении, его химическом составе и свойствах. Так еще в 1941г имелись клинические данные о лечении эхинацином (сок из надземной части эхинацеи пурпурной) плохо заживающих ран, в 1952г - данные о его антигиалуронидазной активности, в 1953 - о влиянии на фагоцитоз нейтрофилов, в 1959 - на систему комплемента и пропердиновую систему. В 1962г было установлено, что экстракты из эхинацеи повышают неспецифическую устойчивость к инфекции. В 80-е годы появились новые данные о биологической, в том числе иммуностропной, активности эхинацеи и выделяемых из нее веществ, и, соответственно, - новые возможности оценки качества препаратов из эхинацеи по содержанию активных веществ. В настоящее время к основным активным веществам эхинацеи относят: производные кофейной кислоты, алкиламида, полисахариды и гликопротеины. Производные кофейной кислоты, прежде всего цихориевая, обладают выраженными иммуномодулирующими свойствами, стимулируют фагоцитоз. Алкиламида оказывают местноанестезирующее действие на язык. По этому признаку индейцы определяли качество лечебных снадобий из эхинацеи. Кроме того, они подавляют активность циклооксигеназы и липоксигеназы, вследствие чего обладают противовоспалительными свойствами. Полисахариды, в зависимости от состава сахаров, молекулярной массы, обладают разной активностью: стимулируют фагоцитоз, угнетают активность гиалуронидазы, индуцируют продукцию интерферона макрофагами, стимулируют секрецию фактора некроза опухолей (TNF), проявляют иммуномодулирующую активность, противоотечные свойства, оказывают ингибирующее действие на белую кандиду, некоторые виды бактерий родов (*Listeria*, *Leishmania*). Гликопротеин и гликопротеино-полисахаридный комплекс из эхинацеи пурпурной и узколистной стимулируют В-лимфоциты, вызывают секрецию макрофагами ин-

терлейкина-1 (ИЛ-1), TNF и интерферонов α и β [9,10]. Предполагают, что терапевтические эффекты эхинацеи достигаются взаимодействием, синергизмом, входящих в ее состав веществ. Однако остается пока неясным, исчерпываются ли активные вещества растения перечисленными выше или имеются и другие [8]. Установлено, что содержание активных веществ неодинаково в разных частях растения. В надземной части наибольшее их количество содержится в цветках, поэтому при оценке качества сырья для получения препаратов из всей надземной части рекомендуется обращать особое внимание на присутствие в нем достаточного количества цветков. Поскольку среди активных веществ растения имеются и гидрофильные, и гидрофобные, от способа их извлечения существенно зависит эффективность получаемых препаратов [10].

В настоящее время за рубежом из эхинацеи пурпурной производится несколько десятков препаратов, в том числе: Echinacin, Echinaforce, Immunal, Echinacea Hexal, Esberitox, Echinacea purpurea monoplantR. ВНИИ лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) имеет уже более чем полувековую историю исследования эхинацеи пурпурной. В отчетах института за 1946-47гг приведены сведения о работах по интродукции этого растения в Краснодарском крае, в 1949-50гг она уже была районирована в нескольких областях России и Украины, с 1952г проводилось фармакологическое изучение сока из эхинацеи пурпурной, а в 1959г - его клиническое изучение. В конце 80-х - начале 90-х гг исследования по эхинацее пурпурной возобновились, их результатом явилось создание препарата эстифан - первого (и пока единственного) отечественного иммуностимулятора из эхинацеи.

Эстифан представляет собой аморфный порошок (сухой экстракт). Его получают экстрагированием 25% спиртом высушенной травы эхинацеи пурпурной, собранной в фазу цветения, и последующим высушиванием в определенном режиме [11]. В состав эстифана входят полисахариды, эфиры оксикоричных кислот, свободные, растворимые в воде, сахара, рутин [12].

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭСТИФАНА

Экспериментальное доклиническое изучение иммуотропного действия

Исследования были проведены в соответствии с современными методическими указаниями по доклиническому изучению новых препаратов иммуотропного действия [13]. В качестве основной была использована широко известная модель тимус-зависимого иммунного ответа, формирование которого определяется совместной работой 3-х видов клеток: макрофагов, Т- и В- лимфоцитов. Модель воспроизводили внутрибрюшинным (в/бр) введением эритроцитов барана (в субоптимальной и оптимальной дозах) мышам линии СВА и F₁

(СВАхС₅₇В1), а также белым крысам. В известные стандартные сроки после введения эритроцитов определяли показатели гуморального звена иммунного ответа: количество антителообразующих клеток в селезенке (АОК) по методу Cunningham и титр гемагглютининов (ГА) в сыворотке крови. Влияние препарата на клеточно-опосредованное звено иммунной системы изучалось на модели реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), воспроизводившейся на мышах СВА введением сенсибилизирующей, а через 5 дней - разрешающей дозы эритроцитов барана. Действие препарата на трансплантационный иммунитет исследовалось на мышах-гибридах (СВАхС₅₇В1) по реакции "трансплантат-против хозяина" (РТПХ), воспроизводившейся субплантарным введением в колатеральные лапы аллогенных и сингенных лимфоцитов. Индекс РТПХ определяли на 8-е сутки после введения лимфоцитов по соотношению массы регионарных лимфатических узлов. Исследование митогенных и комитогенных свойств эстифана проводилось в условиях *in vitro* и *in vivo* на неразделенных спленоцитах и выделенных по методу Mage В- и Т-лимфоцитах, культивируемых в специальной питательной среде. В качестве митогенов (при изучении комитогенных свойств эстифана) использовали конканаваллин А, митоген лаконоса и бактериальный липополисахарид (ЛПС) в субоптимальных концентрациях. По количеству меченого тимидина, включенного в размножающиеся клетки в течение 24 часов после добавления эстифана, оценивали бласттрансформацию. Влияние эстифана на кооперацию В- и Т-лимфоцитов исследовалось методом "адотивного переноса клеток в культуре *in vivo*". В соответствии с этим методом, латентно облученным мышам вводили от здоровых мышей-доноров Т- и В- лимфоциты, либо те и другие одновременно. Для введения контрольной группе использовали лимфоциты от интактных здоровых мышей, опытной группе - от здоровых мышей, получавших в течение 4-х дней эстифан в дозе 10мг/кг (в/бр). Кроме того, была использована еще 1 группа облученных мышей-реципиентов, которой эстифан вводили в течение 4х дней после введения донорских лимфоцитов. Оценивали гуморальный иммунный ответ всех мышей-реципиентов на эритроциты барана. Влияние эстифана на фагоцитарную активность макрофагов исследовали по следующим показателям: поглощение твердых частиц ("Carbon-clearance"-тест); киллерная активность в отношении поглощенного стафилококка; интенсивность продукции супероксидных радикалов - хемилюминесцентный метод. Влияние эстифана на продукцию ИЛ-1 перитонеальными макрофагами изучалось на мышах линии СВА. Содержание ИЛ-1 определяли стандартным методом по показателям поглощения меченого тимидина размножающимися тимоцитами. Действие эстифана на продукцию интерлейкина -2 (ИЛ-2) клетками селезенки исследовалось в опытах на мышах с количественным определением данного вещества по показателям его влияния на пролиферацию ИЛ-2-зависимой линии цитотоксических Т-клеток (в сравнении с тест-реагентом - рекомбинантным ИЛ-2).

В экспериментах установлено, что эстифан в диапазоне доз от 0,1 до 10мг/кг (в/бp) оказывает выраженное стимулирующее влияние на гуморальное и клеточное звено иммунной системы (табл.1). Действие препарата проявляется при его введении до и после иммунизации. При пероральном (p/o) введении мышам в дозах 50 и 500мг/кг эстифан оказывает стимулирующее влияние на гуморальный иммунный ответ как при его непрерывном 3-х недельном применении, так и в условиях его применения прерывистым курсом: 4 дня введения-3 дня перерыв. Установлено также, что введение эстифана в малой дозе (20мг/кг) после прерывистого курса поддерживает титр антител еще в течение 3-х недель (табл.2). Таким образом, возможно варьирование схем применения эстифана, с целью достижения оптимального эффекта при минимальных дозах препарата.

В опытах на крысах установлено, что введение эстифана в дозе 50мг/кг (p/o) в течение 6 месяцев не приводит к уменьшению со временем его иммуномодулирующего эффекта. Эффект препарата в большей дозе (500мг/кг) после 6 месяцев введения несколько снижается.

Таблица 1

Влияние эстифана при его четырехкратном внутрибрюшинном введении до иммунизации на гуморальный и клеточный иммунный ответ мышей на эритроциты барана

Дозы эстифана (мг/кг)	Показатели иммунного ответа у мышей СВА (M±m):			Титр ГА у мышей СВАхС ₅₇ Вl
	Кол-во АОК в селезенке	Титр ГА	Индекс реакции ГЗТ	
0,1	67960±3740*	8,2±0,4	-	3,7±0,4*
1,0	92160±3640**	8,6±0,5*	23,0±1,6*	5,2±0,4**
10,0	60670±2460	9,0±0,5*	24,0±1,7*	5,2±0,5**
100,0	42240±2480	7,4±0,3	-	5,3±0,5**
Контроль	57790±3070	7,2±0,4	15,0±1,1	2,2±0,4

* - здесь и в других таблицах достоверность различий с контролем при P<0,05

** - P<0,01

Как показали эксперименты, эстифан оказывает активирующее влияние на многие элементы, участвующие в формировании иммунного ответа. Он повышает поглотительную и киллерную активность макрофагов из различных компартментов организма (табл.3), потенцирует бласт-трансформацию лимфоцитов и усиливает действие других митогенов. Эстифан усиливает взаимодействие макрофагов и лимфоцитов, в 2-2,5 раза (в зависимости от дозы) активирует продукцию макрофагами ИЛ-1. Влияние на продукцию ИЛ-2 слабо выражено

(30-50%). Не установлено какого-либо влияния эстифана на трансплантационный иммунитет.

Таблица 2

Влияние эстифана при различных схемах его перорального применения на показатели гуморального иммунного ответа мышей СВА на эритроциты барана

Äîçû ÿñòèòàíà, ìä/èä	Ñõàìù äåååäíèý	Êîèè÷åñòâî ÄÎÊ â ñåäåçäíèä	Òèòð ÄÀ
50	I. 3 íåååèè, åæääíääî	73240±4800*	12,4±0,6*
500		102030±5700**	14,6±0,6**
Êîòòèèü		54920±2400	8,0±0,4
50	II. 3 íåååèè: 4 äíý äåååäíèý, 3 äíý ðääððä	98640±2400**	14,2±0,7*
500		120070±4960**	16,9±0,6*
Êîòòèèü		62120±1960	8,4±0,6
50	III. 3 недели по схеме II + 3 недели 20 мг/кг ежедневно	96820±4400**	12,0±0,6*
500		110960±5960**	15,4±0,8*
Êîòòèèü		60980±3240	8,2±0,5

Таблица 3

Стимулирующий эффект эстифана (%) на функциональную активность брюшнополостных и легочных макрофагов

Äîçû (ìä/èä) è ñîñíà äåä-äåíèý ðäðä-ðäðä	Ìäèððäèè	Êîìïëåìåíòíî: ðåñ:		
		ýññòåäèäíèý ðäðä ìä FGA	хемилуминисцентный	ñåñíèäèä ÷åñòòî ððèè
3, ä/äð	äððèîî-èîððä	108,1	36,8	278
5, ä/äð		132,4	94,4	253
5, èíäèýðèè, 3-èðäðð	èääî÷íä	-	54	-

Клиническое изучение иммуностропных свойств эстифана.

В условиях клинического изучения в отделении "Иммунодефицитов взрослых" (зав.-проф. А.М. Борисова) Института иммунологии МЗРФ (директор- академик РАМН Р.М. Хаитов) исследовалось влияние эстифана на иммунный статус 56 больных: 50 - с хроническими

неспецифическими воспалительными заболеваниями легких (ХНЗЛ) и 6 - с фурункулезом рецидивирующего характера. Оценивалось действие препарата, применявшегося по 2-м схемам: I - по 2 таблетки (0,2г) 3 раза в день в течение 25-ти дней; II - по 2 таблетки 3 раза в день в течение 5-ти дней, затем - по 1 таблетке 3 раза в день в течение 20-ти дней. Иммунологическое обследование больных проводилось до применения эстифана, в период его применения и по окончании применения и включало оценку системного и местного иммунитета. Оценка иммунного статуса проводилась с использованием моноклональных антител; с помощью проточного цитометра "Ortum Spectrum" исследовали состав иммунокомпетентных клеток (содержание CD3, CD4, CD8, CD16, CD21). Подсчитывалось общее количество лейкоцитов и лимфоцитов, оценивался фагоцитарный индекс лейкоцитов, определялось содержание в сыворотке крови иммуноглобулинов различных классов. Из показателей местного иммунитета определяли: клеточный состав бронхо-альвеолярного лаважа, в секрете - содержание IgA, в бронхиальном смыве - IgM, IgG, IgE.

В результате исследований установлено, что применение эстифана вызывает отчетливую тенденцию к нормализации показателей системного иммунитета. Наиболее выраженная динамика показателей клеточного иммунитета (повышение исходно сниженных значений количества Т-лимфоцитов и их субпопуляций, увеличение количества В-лимфоцитов и натуральных киллеров) наблюдалась у больных с ХНЗЛ в фазе обострения. Так, до начала лечения эстифаном количество Т-лимфоцитов (CD3) было $61,2 \pm 3,1\%$, после лечения - $72,0 \pm 2,3\%$. Отмечено также достоверное увеличение Т-хелперов: до лечения - $39,0 \pm 4,6\%$; после лечения - $50,4 \pm 3,8\%$. Та же, но несколько менее выраженная тенденция наблюдалась и у больных в стадии ремиссии. Содержание иммуноглобулинов изменялось под влиянием эстифана, в зависимости от их исходных показателей: повышались исходно сниженные значения и снижались - исходно повышенные. Фагоцитарная активность усиливалась под влиянием препарата, независимо от стадии заболевания (обострение или ремиссия). Показатели местного иммунитета на фоне применения препарата также имели тенденцию к нормализации: снижалось количество нейтрофилов в бронхо-альвеолярном лаваже, повышался лизосомальный индекс макрофагов в фазу ремиссии заболевания, снижались исходно повышенные уровни IgG и повышались исходно сниженные уровни IgM, IgA, IgD. На основании проведенных клинических иммунологических исследований сделано заключение о том, что эстифан обладает корректирующим действием на иммунологические показатели больных с иммунодефицитами, нормализует измененные показатели как системного, так и местного иммунитета.

Экспериментальное изучение общепармакологических свойств эстифана.

Исследовалось влияние эстифана на функциональное состояние основных систем и органов. Нейротропное действие изучалось по нескольким показателям: влияние на ЭЭГ кроликов, записанные в условиях покоя и стимуляции звуковыми и световыми раздражителями; на спонтанную двигательную активность мышей, условно-рефлекторную деятельность крыс, эффекты анализаторов снотворно-наркоотического и судорожного действия. Действие на сердечно-сосудистую систему исследовалось по показателям ЭКГ у кроликов и гемодинамики - у кошек; влияние на систему гемостаза - по показателям гемокоагуляции и агрегации тромбоцитов в условиях *in vitro* и при внутривенном введении кроликам. Влияние на репаративные и воспалительные процессы изучалось на моделях острых, подострых и хронических поражений желудка, вызванных агентами с различными механизмами повреждающего действия, показателям скорости заживления экспериментальных асептических кожных ран и моделях формалинового и гистаминового артрита у мышей и крыс. Анальгезирующее действие изучалось по методу "Горячей пластинки"; влияние на проницаемость капилляров - по известному методу Монаковой-Ойвина, влияние на диурез - по методу Берхина, влияние на бронхоспазм - по методу Каминки. На изолированных отрезках подвздошной кишки морских свинок и изолированных семенных пузырьках крыс изучалось действие эстифана на периферические рецепторы.

Результаты исследований показали, что эстифан оказывает слабое активирующее влияние на ЦНС по показателям ЭЭГ, повышает спонтанную двигательную активность мышей и вызывает тенденцию к сокращению продолжительности снотворного действия хлоралгидрата и гексенала. Эстифан оказывает слабое стимулирующее влияние на деятельность сердца. В дозах 5-20 мг/кг внутривенно он повышал на 15-18% ударный объем крови, на 12% - систолическое, на 11% - систолическое, на 19% - пульсовое давление; незначительно снижал частоту сердечных сокращений. По совокупности данных сделано заключение о том, что препарат вызывает дозозависимое увеличение сердечного выброса. В условиях *in vitro* и *in vivo* установлено, что эстифан (по большинству исследованных показателей) обладает дозозависимым гиперкоагуляционным действием и умеренной антиагрегационной активностью. По последнему эффекту он в 1,5-2,0 раза уступает аспирину. Выявлено также умеренное диуретическое действие эстифана, усиление под его влиянием выведения ионов натрия, в значительно меньшей степени - ионов калия. В опытах на изолированных семенных пузырьках выявлено альфа-адренолитическое действие препарата в концентрациях от 10^{-8} г/мл и выше. Во всех других исследованных направлениях отчетливого действия препарата не установлено.

Исследование проведено в соответствии с принятыми в настоящее время методами и схемами изучения безопасности новых лекарственных средств [14]. Оно включало исследование острой и хронической токсичности препарата, специфических видов токсичности: мутагенных, аллергизирующих, эмбриотоксических и тератогенных свойств. В экспериментах установлено, что по параметрам острой токсичности для мышей, крыс и морских свинок, эстифан может быть отнесен к классу относительно безвредных веществ. Его ЛД₅₀ для указанных видов животных при в/бр введении колеблется от 3200 до 3400 мг/кг, при введении в желудок - более 15 000 мг/кг. Не выявлено какой-либо зависимости уровня токсичности препарата от вида и пола животных.

Исследование хронической токсичности эстифана проведено на белых крысах-самцах. Препарат вводили внутривентрикулярно в дозах 50, 500 и 1500 мг/кг, ежедневно на протяжении 6-ти месяцев. Установлено, что в изученных дозах эстифан не проявляет токсических свойств по всем использовавшимся критериям оценки. Он не влияет на общее состояние и поведение животных, содержание лейкоцитов, эритроцитов, ретикулоцитов, тромбоцитов, гемоглобина в крови, показатели гемограмм и миелограмм костного мозга, содержание в сыворотке крови общего белка, холестерина, глюкозы, мочевины. Однако после 1 месяца введения препарата было отмечено увеличение, по сравнению с контролем, массы тела крыс, получавших эстифан. Различия сохранялись до конца эксперимента. По показателям содержания в сыворотке крови аланин- и аспартат-аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, фруктозо-1,6-дифосфоальдозазы, эстифан не оказывает влияния на функциональное состояние печени. Это подтверждалось и проведенной в конце эксперимента бромсульфалеиновой пробой. После 6-месячного введения препарата в изученных дозах не отмечалось нарушений деятельности сердца по показателям ЭКГ, не было выявлено токсического действия препарата на почки по показателям диуреза в условиях водной нагрузки. Патоморфологические исследования подтвердили отсутствие у препарата токсического действия на внутренние органы, выявили увеличение у животных, получавших эстифан, клеточного наполнения тимуса, лимфоидных фолликул селезенки и прямой кишки. Последний факт является свидетельством иммуностимулирующего действия препарата. В условиях 3-месячного эксперимента на беспородных собаках обоего пола исследовалась безопасность применения эстифана в готовой лекарственной форме (таблетки по 0,2 г). Препарат в смеси с мясным фаршем давали животным ежедневно в дозе 100 мг/кг, соответствующей 10-кратной суточной терапевтической дозе для человека. Для оценки действия препарата использовали те же критерии, что и при изучении его хронической токсичности на крысах. Результаты исследования показали, что эстифан в изученной дозе не проявляет токсических свойств. При патоморфологическом изучении не было выявлено признаков токсического действия препарата на внутренние ор-

ганы; как и в опытах на крысах, отмечалось увеличение клеточного наполнения тимуса и лимфоидных фолликул селезенки.

В опытах на белых крысах с использованием принятых в настоящее время методов [15] проведено изучение эмбриотоксических и тератогенных свойств эстифана. При введении в желудок в дозах 50, 250 и 1000 мг/кг с 6-го по 16-ый дни беременности и в дозе 500 мг/кг - с 1-го по 19-ый дни беременности эстифан не проявлял эмбриотоксических и тератогенных свойств и не влиял на репродуктивную функцию животных.

Изучение мутагенного действия эстифана, проведенное с использованием методов учета доминантных леталей в зародышевых клетках мышей и хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей, показало, что эстифан не индуцирует генетических нарушений в соматических и зародышевых клетках. На штаммах сальмонелл методом регистрации различных типов точковых мутаций по тесту Эймса установлено, что эстифан не проявляет мутагенных свойств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальные и клинические исследования эстифана подтвердили многочисленные имеющиеся в литературе данные об иммунокорригирующих свойствах эхинацеи пурпурной и получаемых из нее препаратов. Результаты токсикологического изучения эстифана дополняют данные литературы о высоком уровне безопасности эхинацеи пурпурной и выделяемых из нее веществ [10, 16].

На основании результатов доклинического и клинического изучения эстифан разрешен к применению в медицинской практике в качестве иммунокорригирующего средства для профилактики и лечения заболеваний, связанных с иммунодефицитными состояниями. В частности, его назначают при хронических рецидивирующих заболеваниях воспалительного характера (хронические бронхиты, пневмонии, заболевания ЛОР-органов и др.), а также при инфекционных заболеваниях в качестве дополнительного средства лечения в условиях неэффективности или недостаточной эффективности антимикробной и противовоспалительной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абелев Г.И. (под ред.) - (1987) "Иммунология". Москва, "Мир".
2. Радовская И.В. (1991) "Иммунологические мониторинги больших групп населения". Дисс. д.м.н., Москва.

3. Лесков В.П., Чередеев А. Н., Горлина Н. К., Новоженков В.Г. (1997) "Клиническая иммунология для врачей". Москва, "Фармус принт".
4. Енютина Е.Ю., Татаурова Т.А., Шкаренков А.А. и др. (1992) "Перспективы создания иммуностимуляторов растительного происхождения". I Российский нац. Конгресс "Человек и лекарство", тез. Докл., с. 203.
5. Бакуридзе А.Д. (1993) "Иммуномодуляторы растительного происхождения". Хим. фармац. журн., 27 (8), с. 43-47. Библ.-80 назв.
6. Wildfeuer A. and Mayerhofer D. (1994). *Arzneim.-Forsch.Drug.Res.*, 44/3,361-366.
7. See D.M. (1997). *Immunopharmacology*,35/3,229-235
8. Pepping J., Pharm D. (1999) "Echinaceae". *Am J. Health-Syst Pharm.*, v. 56, Jan.15,p.121-122.
9. Bauer R., Wagner H. (1990). "Echinacea - Handbuch fur Arzte, Apotheker und andere Naturwissenschaften". Wissenschaftl. Verlags Gesellschaft, Stuttgart.
10. Bauer R. (1994) "Echinacea. Eine Arzneidroge auf dem Weg zum rationalen.
11. ПАТЕНТ N 2137490 (1999) "Иммуностимулирующее средство эстифан и способ его получения". Бюлл. изобр.N 26,20.09.
12. Стихин В.А., Сенина Т.А., Бабаева Е.Ю. и др. (1996)."Новый иммуностимулирующий препарат из эхинацеи пурпурной". Тез. докл. науч. когресса " Традиционная мед.: теоретич. и практ. аспекты"- Чебоксары, с. 100.
13. Хаитов Р. М., Гущин И.С., Пинегин Б.В., Зебрев А.И. (1999) " Экспериментальное изучение иммуностропной активности фармакологических препаратов". Ведомости Фармакологического Комитета, N1,с.32-37.
14. Арзамасцев Е.В., Гуськова Т.А. и др. (1998) "Методические рекомендации по изучению общетоксического действия фармакологических средств". Ведомости Фармакол. Комитета N1, с. 32-37.
15. Любимов Б.И. и др. (1998) "Методические рекомендации по доклиническому изучению репродуктивной токсичности фармакологических средств". Ведомости Фармакол. Комит., N1, с.13-20.
16. Mengs U., Clare C.B., Pooley J.A. (1991). "Toxicity of Echinacea purpurea". *Arzneim.-Forsch.*

Sakovich G.S., Kolkhir V.K., Yenyutina E.Yu., Shkarenkov A.A., Stihin V.A., Alibekov S.D., Baginskaya A.I., Senina T.A., Trumpe T.E., Borovkova M.V., Glazova N.G., Leskova T.Ye.

THE WORKING UP OF AESTIPHAN (ESTIPHANUM) - AN IMMUNE-STIMULANT FROM ECHINACEA PURPUREA-GRASS (THE ABOVE-GROUND PART).

Estiphanum (EST) is a new Russian medicinal remedy. Experimental animal investigations showed, that EST enhanced functional activity of phagocytes, increased production of antibodies and of cell-mediated immune response, had mitogen- and co-mitogen-properties, intensified cooperation of B- and T- lymphocytes. Clinic-immunological study established the correcting action of the drug on some immunological parameters in the patients with immune- deficiencies. EST was recommended to use for the treatment and prophylaxis of diseases, connected with immune-dephiciencies. In the article there are some more data concerning EST and information of literature about Echinacea-preparations.

БОРТНИКОВА В.В., КРЕПКОВА Л.В., АРЗАМАСЦЕВ Е.В., КУЗНЕЦОВ Ю.Б.,
БОРОВКОВА М.В.

ВИЛАР, Москва, Россия

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ И ПРОТИВОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Лекарственные препараты, получаемые из растений, часто обладают широким спектром биологического действия на организм [1-4].

В институте разработан ряд новых фитопрепаратов антимикробного и противовирусного действия, таких как сангвиритрин, эвкалимин, флакозид, алпизарин, хелепин-Д, анмарин [2]. При доклиническом изучении этих фитопрепаратов наряду со специфической активностью, были выявлены новые фармакологические свойства, заслуживающие самостоятельного изучения. В настоящей работе представлены результаты исследования противовоспалительных свойств оригинальных препаратов растительного происхождения - сангвиритрина, донелвина, эвкалимина, флакозида, хелепина-Д, алпизарина, анмарина.

Сангвиритрин (*Sanguiritrinum*) – антимикробный препарат, получаемый из травы маклеи сердцевидной и мелкоплодной (*Macleaya cordata*, *M. Microcarpa*), представляющий собой трудноразделимую смесь бисульфатов двух близких алкалоидов – сангвинарина и хелеритрина. Эвкалимин (*Eucalyminum*) – антибактериальный препарат, получаемый из листьев или побегов эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus globulus*), представляющий собой очищенную сумму терпеноидных альдегидофенолов (эуглобалей). Донелвин (*Donelvinum*) – антимикробный препарат, получаемый из корней шалфея лекарственного (*Salvia officinalis*), представляющий собой сумму дитерпеноидных хинонов типа ройлеанона. Анмарин (*Anmarinum*) – противогрибковый препарат, получаемый из плодов амми большой (*Ammi majus* L.) путем химической модификации природного дигидрофурукумарина – мармезина, представляющий собой смесь двух изомеров ангидромармезина. Хелепин-Д (*Helepinum-D*) – противовирусный препарат, получаемый из десмодиума канадского (*Desmodium Canadensis*), представляющий собой сумму флаваноидов: ориентин, гомоориентин, сапонаретин, витексин, леспедин, кемпферон, кверцетин. Флакозид (*Phlacosidum*) – противовирусный препарат, получаемый из листьев бархата амурского и бархата Лавалея (*Phylodendron amureuse*, *Phylodendron Lavalae Dode*), представляющий собой индивидуальное соединение 8-(3-метилбут-2-енил)-5,4¹-диокси-7-О-β-Д-глюкопиранозил-флавонол. Алпизарин (*Alpizarinum*) – противовирусный препарат, получаемый из травы копеечника альпийского или желтеющего (*Hedysarum alpinum*, *Hedysarum flavescens*) или из листьев манго (*Mangifera indica*). Пред-

ставляет собой индивидуальное вещество 2-С-β-Д(глюкопиранозид)-1,3,6,7-тетраоксиксантон.

При изучении противовоспалительных свойств использовали модель термического ожога различной интенсивности [5]. Исследования выполнены на 280 белых нелинейных мышах (самцы, масса тела 22-25 г, по 10 животных в каждой группе) на полуавтоматической установке, позволяющей создать дозируемые ожоги (регулируемая площадь, температура и экспозиция термического воздействия), которые по существующей классификации относились к ожогам IIIA-IIIБ (105°C) и IIБ-IVА (130°C) степени. Ожоги наносили на депилированную за 2 суток до опыта кожу поясничного отдела животных. Площадь ожога составляла 2% поверхности тела мышей и определялась планометрически каждые 3-4 дня с оценкой состояния ожоговой раны.

Для исследования использовали субстанции препаратов и в части опытов, их готовые лекарственные формы: сангвиритрин – субстанция, 1% линимент; эвкалимин – субстанция, 1% спиртовой раствор; донелвин – субстанция, 0,25% мазь; хелепин-Д – субстанция, 5% мазь алпизарин – субстанция; анмарин – субстанция; флакозид – субстанция.

Влияние препаратов на процессы регенерации при термическом повреждении кожи у мышей исследовали в 3 сериях опытов.

А I серии опытов изучали влияние субстанций сангвиритрина, эвкалимина, донелвина, анмарина, флакозида, хелепина-Д, и алпизарина на скорость заживления ожоговой раны при профилактическом введении. Препараты вводили мышам однократно внутрибрюшинно в дозе 1/10 ЛД₅₀ за 60 минут до термического воздействия при температуре 105°C.

Наиболее выраженное ускорение заживления ожогов у мышей наблюдали при профилактическом введении донелвина и анмарина в дозах 60 и 50 мг/кг, соответственно, под влиянием которых статистически достоверные различия по сравнению с контролем, отмечали уже на 3-е сутки после нанесения ожоговой травмы. При этом на протяжении первой недели достоверное уменьшение ожоговой поверхности зарегистрировано у животных, получавших сангвиритрин в дозе 1,5 мг/кг, эвкалимин – в дозе 20 мг/кг, хелепин – 200 мг/кг. В группе животных, профилактически получивших противовирусные препараты флакозид и алпизарин в дозе 100 мг/кг, на протяжении первой недели эксперимента не отмечено существенных различий площади ожога по сравнению с контролем. В последующие периоды наблюдения (8-12-е сутки) достоверное уменьшение величины ожоговой поверхности по отношению к контролю отмечали во всех группах животных, получавших перед нанесением ожогов изучаемые препараты. На 14-17-е сутки у мышей этих групп отмечали полное заживление ожоговой раны с образованием нежного рубца. Заживление ожогов у животных кон-

трольных групп происходило значительно медленнее и завершалось не ранее 20-22-х суток после ожоговой травмы (рис.1).

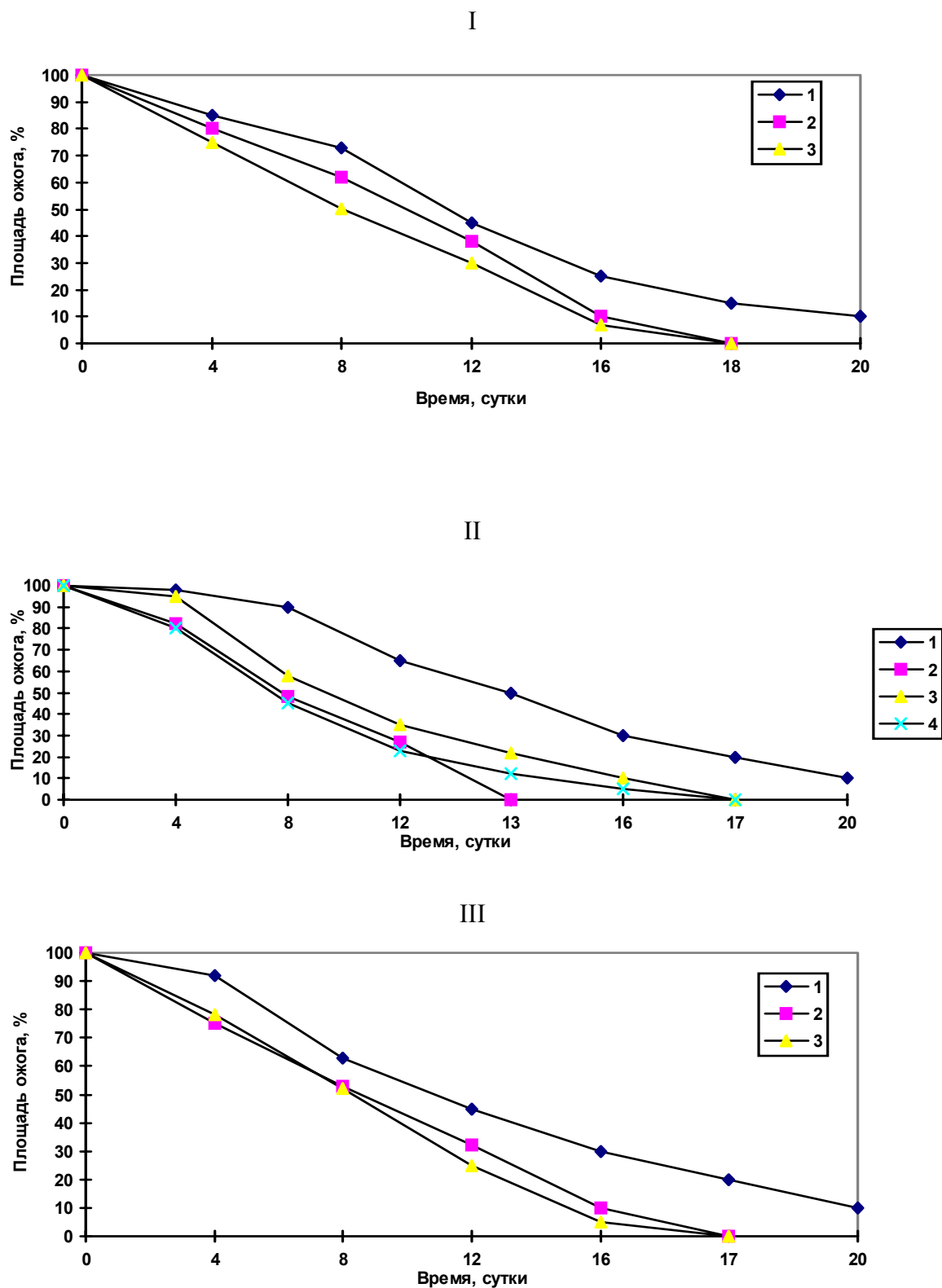


Рис.1. Влияние антимикробных и противовирусных препаратов при профилактическом введении на величину термического ожога и скорость его заживления.

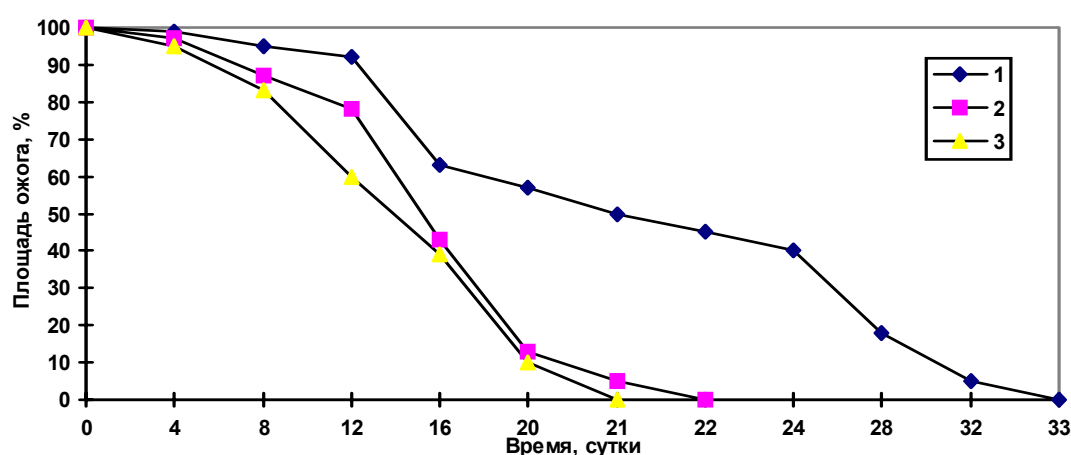
Обозначения: I. 1 — контроль (вода), 2 — сангвиритрин, 3 — хелепин.

II. 1 — контроль (масло), 2 — донелвин, 3 — эвкалимин, 4 — анмарин.

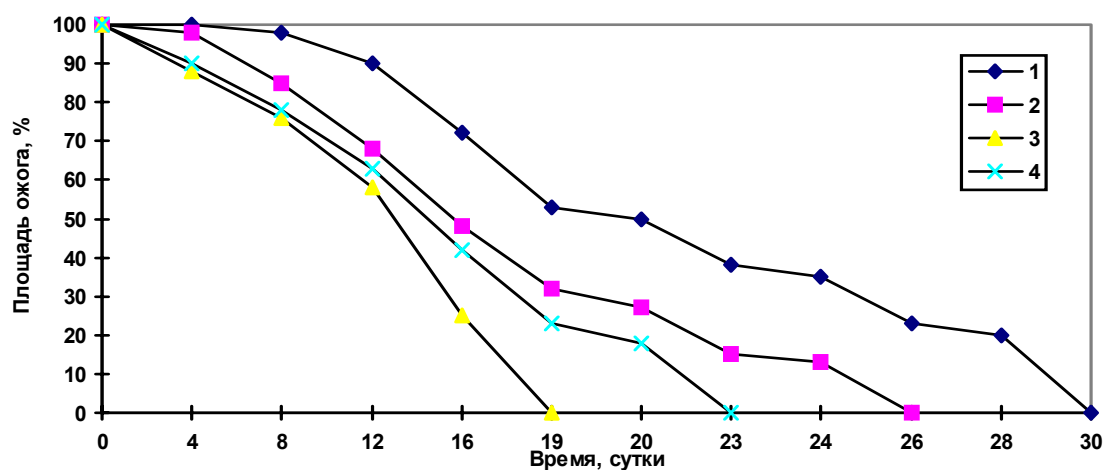
III. 1 — контроль (ДМСО), 2 — флакозид, 3 — алпизарин.

Ао II серии опытов на модели более тяжелого ожога (130°C) изучали влияние препаратов на скорость заживления ожоговой раны при их последующих повторных введениях, начиная с первых суток после термического воздействия, до полного заживления раны. Субстанции препаратов вводили внутривбрюшинно в дозах 1/10 от ЛД₅₀. В этих условиях опыта, начиная с 8-12-х суток наблюдения, отмечено ускорение заживления ожогов практически во всех группах животных. Полное заживление ожоговой раны завершалось уже на 19-23-е сутки наблюдения, тогда как у животных контрольных групп эпителизация ожоговой поверхности заканчивалась не ранее, чем к 30-33-м суткам (рис.2).

I



II



III

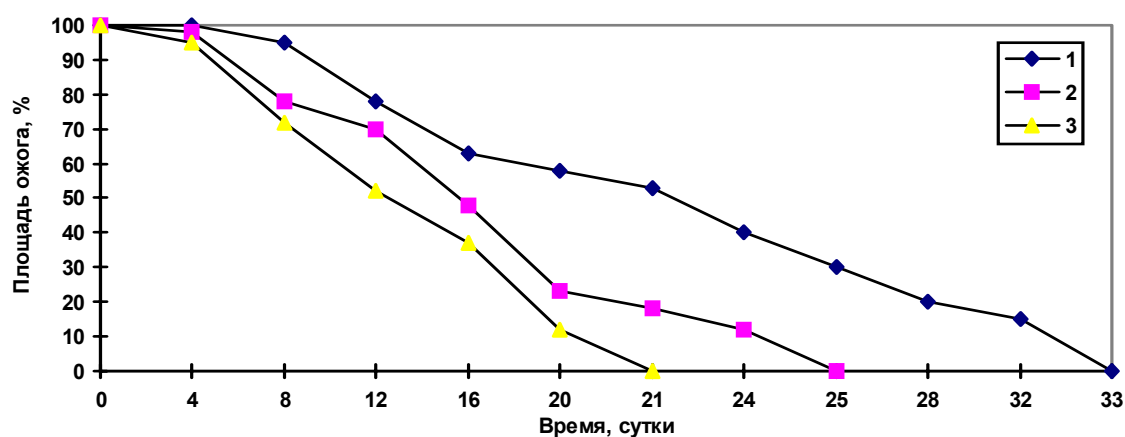


Рис.2. Влияние антимикробных и противовирусных препаратов на скорость заживления ожога при повторном внутривенном введении после ожоговой травмы.

Обозначения: I. 1 — контроль (вода), 2 — сангвиритрин, 3 — хелепин.

II. 1 — контроль (масло), 2 — донелвин, 3 — эвкалимин, 4 — анмарин.

III. 1 — контроль (ДМСО), 2 — флакозид, 3 — алпизарин.

Следует отметить, что заживление ожогов у животных, получавших с лечебной целью изучаемые препараты, происходило без инфицирования ожоговой поверхности. У контрольных мышей заживление ожогов осложнялось инфицированием раны и существенным, по сравнению с лечеными животными, удлинением срока эпителизации ожога.

В III серии экспериментов исследовалась эффективность лечебного действия препаратов в лекарственных формах для наружного применения в концентрациях, превышающих терапевтические дозы, рекомендованные для человека в 3-6 раз, на скорость заживления термических ожогов при повторных аппликациях. Применение препаратов в лекарственных формах, начиная с первых суток после нанесения термического ожога IIIБ-IVА степени и до полного заживления, показало, что у леченных 0,25% мазью донелвина (в дозе 6 мг/кг в расчете на действующее вещество) мышей к концу первой недели эксперимента наблюдалось статистически достоверное уменьшение площади ожога по сравнению с контролем. В последующие периоды наблюдения заживление ожога еще более ускорялось и заканчивалось почти в 2 раза быстрее, чем в контроле, к 17 суткам, при 31 сутках в контроле (рис.3). Начиная со второй недели наблюдения отмечали достоверное, по сравнению с контролем, уменьшение ожоговой поверхности в группе мышей, получавших аппликации 1% линимента сангвиритрина в дозе 20 мг/кг по основному действующему веществу. Применение эвкалимина в виде 1% спиртового раствора (в дозе 15 мг/кг¹) и хелепина-Д в виде 5% мази (в дозе 125 мг/кг¹) приводило к уменьшению площади ожоговой поверхности к 16-20 суткам наблюдения (рис.3).

¹ По основным действующим веществам.

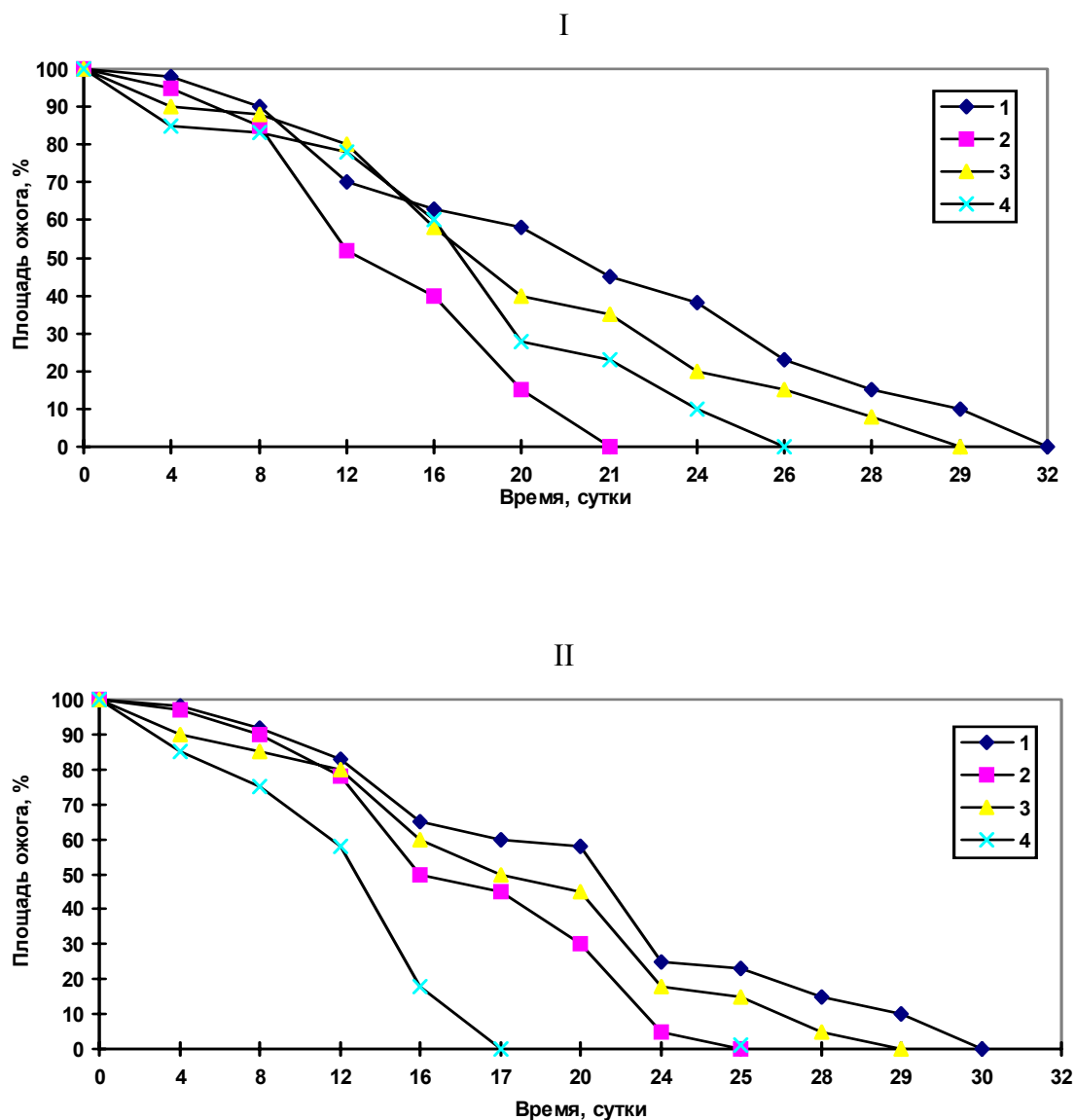


Рис.3. Влияние препаратов в лекарственных формах для наружного применения на скорость заживления ожога.

Обозначения. I. 1 — контроль (основа), 2 — 1 % линимент сангвиритрина, 3 — контроль (этанол), 4 — 1 % спиртовой раствор эвкалимина.

II. 1 — контроль (основа), 2 — 5 % мазь хелепина, 3 — контроль (основа), 4 — 0,25 % мазь донелвина.

Таким образом, результаты проведенных исследований по изучению противовоспалительных и ранозаживляющих свойств антимикробных и противовирусных препаратов растительного происхождения (сангвиритрин, эвкалимин, донелвин, анмарин, хелепин-Д, флакозид, алпизарин) на модели термического повреждения кожи у мышей различной интенсивности, свидетельствуют, что большинство изученных препаратов при профилактическом применении ослабляют выраженность ожоговой травмы, а при лечебном применении ускоряют заживление ожогов как при парентеральном введении, так и при использовании в виде мест-

ных аппликаций их лекарственных форм. Наиболее выраженным противоожоговым действием обладает 0,25% мазь донелвина в дозе 6 мг/кг в виде ежедневных аппликаций на ожоговую рану, что почти в 2 раза, по сравнению с контролем, ускоряет заживление ожога у мышей IIIБ-IVА степени, в связи с чем донелвин может быть перспективным лечебным средством при терапии ожогов. Выявленные противовоспалительные и ранозаживляющие свойства сангвиритрина, эвкалимина, хелепина-Д, алпизарина, флакозида, анмарина следует учитывать при их назначении. Так, клиницисты подтвердили противовоспалительные свойства эвкалимина и в настоящее время препарат разрешен к медицинскому применению в качестве антибактериального и противовоспалительного средства у взрослых и детей.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Бортникова В.В.,(1988), Автореф. дисс. Канд.биол. наук, М.
- 2.Вичканова С.А.,(1981), Автореферат дисс.докт.биол.наук,М.
- 3.Вичканова С.А., 1983), в кн. “Состояние и перспективы исследования
- 4.ний биологической активности веществ из растений и создание на их основе новых лекарственных препаратов”, М., с,107.
- 5.Китаев С.В., Бродина Н.С., Мороз А.В., (1980), Ж. “Антибиотики”, № 3, с.188-189.
- 6.Шехтер А.Б., Берченко Г.Н., Николаев А.В., (1984), Ж. “Архив патологии”, № 2, с.20-29.

V.V. Bortnikova, L.V. Krepkova, E.V. Arzamastsev, Yu.B. Kuznetsov,
M.V. Borovkova.

ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY OF DEFINIT PLANT (HERBAL)

ANTIMICROBIAL AND ANTIVIRAL DRUGS

A study of antiinflammatory and the wound repairing properties of the drugs sanguirithrinum, eucalyminum, donelvinum, anmarinum, helepinum-D, phlacosidum, alpisarinum were carried out. Majority of these drugs in prophylactic treatment accelerate the healing of burns. 0,25% liniment of donelvinum is the best therapeutic remedy of these drugs in therapy of the burns. The drugs sanguirithrinum, eucalyminum, donelvinum, anmarinum, helepinum-D, phlacosidum, alpisarinum possess antiinflammatory and the wound repairing properties too.

ВЫБОРНОВА О.В., ВОЛНУХИН В.А., ГРЕБЕНЮК В.Н., ГРИНЕНКО Н.А.

ЦНИКВИ МЗ РФ, ПЭЗ “ВИЛАР”, Москва, Россия.

ПРИМЕНЕНИЕ АММИФУРИНА В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ОГРАНИЧЕННОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ

Известно, что склеродермия является тяжелым, хроническим заболеванием, относящимся к группе коллагенозов, и характеризуется наличием фиброза в тканях. При ограниченной склеродермии зачастую патология развивается не только в коже, но и в подкожной клетчатке, мышцах, фасциях и даже костях, что приводит к формированию тяжелых, калечащих форм заболевания и ранней инвалидизации больных. В последнее время в зарубежной литературе появились сообщения об успешном лечении склеродермии методом фотохимиотерапии (ФХТ) [1, 2, 3].

ФХТ, или ПУВА-терапия, заключается в сочетанном использовании фотосенсибилизаторов фурукумаринового ряда и длинноволнового ультрафиолетового излучения. К препаратам данной группы относится аммифурин (ПЭЗ “ВИЛАР”, Россия), являющийся единственным отечественным фотосенсибилизатором, применяемым для ФХТ.

В данной работе нами была оценена эффективность лечения больных ограниченной склеродермией аммифурином в сочетании с длинноволновым ультрафиолетовым излучением.

Под наблюдением находилось 15 больных, страдающих ограниченной склеродермией, в возрасте от 8 до 60 лет (четверо - мужского и одиннадцать – женского пола). Их них у 12 пациентов диагностирована бляшечная форма, 1 – буллезная форма, 1 – атрофодермия Пазини–Пьерини и 1 – склероатрофический лишай. У 7 пациентов была многоочаговая форма заболевания, у остальных – единичные очаги склеродермии, которые располагались, в основном, на спине, груди или нижних конечностях. Десять больных получали ФХТ в виде монотерапии; у 5 больных она проводилась на фоне общепринятого медикаментозного лечения, включавшего инъекции пенициллина, лидазы, применение вазоактивных и витаминных препаратов, наружных мазевых средств.

Процедуры проводили на ультрафиолетовых терапевтических установках “Вальдманн УВ-7001 К” (Германия) и “ОУК-1” (Россия). Чтобы избежать влияния ультрафиолетового излучения на видимо здоровую кожу, окружающую склеродермические очаги, её смазывали, на расстоянии 1-2 см от границ поражения, цинковой пастой или фотозащитным кремом. Аммифурин использовали в виде 0,3% раствора или таблеток по 0,02 г. Раствор наносили на пораженную кожу из расчёта 2-5мл на процедуру за 30 минут до воздействия ультрафиолетом, таблетки назначали из расчёта 0,8мг/кг веса больного за 2 часа до облучения. Облуче-

ния начинали, в зависимости от типа кожи (по классификации Т. Б. Фитцпатрика), степени загара и минимальной фототоксической дозы, с 0,05-0,3 Дж/см²; последующие разовые дозы увеличивали через каждые 3-6 сеансов на 0,07-0,2 Дж/см² до максимального значения 2,0-3,5 Дж/см². Первые 25 сеансов проводили 4 раза в неделю, последующие - 2-3 раза в неделю. В среднем курс составлял 45 сеансов. У 2 пациентов через 3-12 месяцев курс лечения повторяли.

Положительный клинический эффект ФХТ наблюдался у 13 (86,7%) больных, выраженный терапевтический эффект (клиническое выздоровление и значительное улучшение) - у 5 (33,3%). После проведенного лечения в очагах склеродермии отмечалось уменьшение или исчезновение воспалительных явлений, размягчение или полное рассасывание уплотнения кожи, уменьшение площади поражений на 50-80% или их полное разрешение. ФХТ оказалась эффективной не только при обычном течении склеродермии, но и у больных с торпидными формами заболевания, резистентными к другим видам терапии.

Из побочных явлений следует отметить появление у больных в зонах облучения вторичной пигментации (в 100% случаев), исчезавшей через 3-6 месяцев после окончания лечения, и развитие эритемы (у 60% больных), разрешавшейся в течение нескольких дней после временной отмены процедур. При наблюдении за больными в течение 1,5 лет дальнейшее прогрессирование или обострение заболевания отмечены в 12,5% случаев.

Таким образом, лечение больных ограниченной склеродермией аммифурином в сочетании с длинноволновым ультрафиолетовым излучением является эффективным и может применяться как в виде монотерапии, так и в сочетании с общепринятыми медикаментозными средствами.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Kerscher M et al. PUVA bath photochemotherapy for localized scleroderma. Evaluation of 17 consecutive patients. Arch Dermatol (1996); 132(11):1280 – 1282.
- 2.Kanekura T et al. Successful treatment of scleroderma with PUVA therapy. J Dermatol (1996); 23(7):455 – 459.
- 3.Garcia-Bustinduy M et al. PUVA therapy in localized scleroderma. J Eur Acad Dermatol Venereol (1998), 10(3):283 – 284.

VYBORNOVA O.V., VOLNUHIN V.A., GRIBENYUK V.N. GRINENKO N.A.
All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia
CENTRAL RESEARCH INSTITUTE OF DERMATOLOGY AND VENEREOLOGY,
VILAR.

AMMIFURIN IN LOCALIZED SCLERODERMA THERAPY

The clinical effectiveness of ammifurin and longwave ultraviolet treatment was evaluated in 15 localized scleroderma patients. Positive therapeutic effect was observed in 13 (86,7%) patients, clinical convalescence and significant improvement – in 5 (33,3%) patients. The therapy was effective in ordinary cases of scleroderms as in torpid forms of the disease, resistant to other therapeutic modalities.

СОДЕРЖАНИЕ

№	Авторы и название статьи	стр.
п.п.		
РАЗДЕЛ 1. РАСТИТЕЛЬНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА И ФИТОПРЕПАРАТЫ — ХИМИЯ, ТЕХНОЛОГИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ		
1	БЫКОВ В.А., МИНЕЕВА М.Ф., НАЙМЫТЕНКО Е.П., КОЛХИР В.К. НОВАЯ СХЕМА СКРИНИНГА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОХИМИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ ТЕСТОВ IN VITRO.	3
2	ЛАПА Г.Б. , ЛОБАНОВА Т.Н., ШЕЙЧЕНКО В.И., ТОЛКАЧЕВ О.Н. ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ БИСИНДОЛЬНЫХ АЛКАЛОИДОВ <i>CATHARANTHUS ROSEUS L.</i>	7
3	СКЛЯР Ю.Е., РОДИОНОВА Н.В. МОДИФИКАЦИЯ ПРИРОДНЫХ	11

	КУМАРИНОВ. СИНТЕЗ НОВЫХ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ СИСТЕМ	
4	СКЛЯР Ю.Е., ВЕСЕЛОВСКАЯ Н.В., КИРЬЯНОВА И.А., БЕЛОВА Л.Ф., СОКОЛОВ С.Я. МОДИФИКАЦИЯ ТЕРПЕНОИДНЫХ КУМАРИНОВ. ПОЛУЧЕНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЗАМЕЩЕННЫХ АМИДОВ КОРИЧНЫХ КИСЛОТ, СОДЕРЖАЩИХ СЕСКВИТЕРПЕНОВЫЙ ОСТАТОК	13
5	СКЛЯР Ю.Е., СОКОЛОВА А.И., ВАНДЫШЕВ В.В., КРИВУТ Б.А. ПОЛУЧЕНИЕ СУММЫ ДИГИДРОСАМИДИНА И ВИСНАДИНА ИЗ КОРНЕЙ ВЗДУТОПЛОДНИКА СИБИРСКОГО	18
6	ЛАПА Г.Б., ШЕЙЧЕНКО В.И., ТОЛКАЧЕВ О.Н. ПОИСК НОВЫХ ПОДХОДОВ К СИНТЕЗУ БЕНЗО[С]ФЕНАНТРИДИНОВЫХ АЛКАЛОИДОВ	20
7	Г.Б. ЛАПА, В.И. ШЕЙЧЕНКО, М.А. ИВАНОВ, Е.Н. ЗВОНКОВА, В.А. БЫКОВ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА ПРИ РАЗРАБОТКЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ПРЕПАРАТОВ ИЗ ЭРГОАЛКАЛОИДОВ	27
8	СКЛЯР Ю.Е., АВРАМЕНКО Л.Г., ДУХОВЛИНОВА Л.И., ВИЧКАНОВА С.А. ДЕГИДРАТАЦИЯ МАРМЕЗИНА ТИОНИЛХЛОРИДОМ	32
9	КИРЬЯНОВ А.А., СТИХИН В.А., СОКОЛЬСКАЯ Т.А. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТРАЇЇЇКІЇЇЇЇ МАРЕНЫ КРАСИЛЬНОЙ	34
10	ГЛЫЗИН В.И., СОКОЛЬСКАЯ Т.А., КАЧАЛИНА Т.В., ОХОТНИКОВА В.Ф., ТАРЕЕВА Н.В., КИРЬЯНОВ А.А. СИБЕКТАН - КОМПЛЕКСНЫЙ РАСТИТЕЛЬНЫЙ ГЕПАТОПРОТЕКТОР	38
11	А.Е. БУРОВА, О.А. КОНОВАЛОВА, Т.А. СОКОЛЬСКАЯ СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПРЕПАРАТА “РОТОКАН”	43
12	ТАРЕЕВА Н.В., ОХОТНИКОВА В.Ф., КАЧАЛИНА Т.В., ГЛЫЗИН В.И. КАЛАНХИН – ПРЕПАРАТ ИЗ ТЕПЛИЦЫ	48
13	АЗАРКОВА А.Ф., ДАВЫДОВА В.Н., БУРОВА А.Е., КИРЬЯНОВ А.А., НЕСТЕРОВ Н.Н. ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ СУХОГО ЭКСТРАКТА АРНИКИ ОБЛИСТВЕННОЙ (<i>Arnica foliosa</i> Nutt.)	52
14	БОГАЧЕВА Н.Г., КОКУШКИНА Н.П., СОКОЛЬСКАЯ Т.А. ТРАВА МАЛЬВЫ ЛЕСНОЙ – НОВІЇ ЛЕКАРСТВЕННОЕ СЫРЬЕ	56
15	Н.Г.БОГАЧЕВА, О.Г.АЛЕНТЬЕВА, Е.А.КОНЯЕВА СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ ИЗ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ	61
16	СЕРЕЖЕЧКИН А.Г., ЛАПА Г.Б., ШЕЙЧЕНКО В.И., ТОЛКАЧЕВ О.Н. О СТЕРЕОХИМИИ N-ПРОТОНИРОВАНИЯ ГЛАУЦИНА	67
17	РЕЗЦОВА Н.А., СКЛЯР Ю.Е., ТОЛКАЧЕВ О.Н., ГЛАЗОВА Н.Г., САКОВИЧ Г.С., КОЛХИР В.К. РЕГИОСЕЛЕКТИВНОСТЬ РЕАКЦИИ РАСЩЕПЛЕНИЯ ИОДМЕТИЛАТА ГЛАУЦИНА ПО ГОФМАНУ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ N-МЕТИЛ-ДЕС-ГЛАУЦИНА	70
18	КИРЬЯНОВА И.А., СКЛЯР Ю.Е., ТОЛКАЧЕВ О.Н. ХРОМОГЕННЫЕ РЕАКЦИИ ГЛАУЦИНА: РЕАКЦИЯ С БРОМАНИЛОМ	74
19	КИРЬЯНОВА И.А., СКЛЯР Ю.Е., ТОЛКАЧЕВ О.Н. О СТРУКТУРЕ ПИГМЕНТОВ: ПРОДУКТОВ НИТРОЗИРОВАНИЯ ГЛАУЦИНА И N-АЦЕТИЛ-ДЕС-ГЛАУЦИНА	77
20	ШЕЙЧЕНКО О.П., ШЕЙЧЕНКО В.И., ТОЛКАЧЕВ О.Н., ГРОДНИЦКАЯ Е.И., ИСАЕВ О.Н., ЦАРЬКОВА Т.Ф. ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ ТАННИНОВ И КВЕБРАХИТА В ЛИСТЬЯХ ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВИДНОЙ	82
21	ТОЛКАЧЕВ О.Н., САВИНА А.А. О МЕХАНИЗМЕ РЕАКЦИИ ДИСПРОПОРЦИОНИРОВАНИЯ САНГВИНАРИНА НА СИЛИКАГЕЛЕ:	87

КОМПЬЮТЕРНЫЕ ПОДХОДЫ

- 22 МАЙСУРАДЗЕ Н.И., ЧЕРКАСОВ О.А., ТОЛКАЧЕВ О.Н. **НАРЦИССЫ - 90**
ПЕРСПЕКТИВНЫЕ РАСТЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ СЫРЬЯ ДЛЯ
ПРОИЗВОДСТВА ГАЛАНТАМИНА
- 23 ТОЛКАЧЕВ О.Н., САВИНА А.А. **К СТРУКТУРЕ ГЛУБОКО 98**
ОКРАШЕННЫХ ПИГМЕНТОВ ИЗ МАКЛЕЙ МЕЛКОПЛОДНОЙ
- 24 НАЗАРОВА О.В., ТОЛКАЧЕВ О.Н. **ИММОБИЛИЗАЦИЯ 104**
САНГВИРИТРИНА НА ВИНЛАМИН-ВИНИЛПИРРОЛИДОНОВОМ
СОПОЛИМЕРЕ
- 25 ТОЛКАЧЕВ О.Н., САВИНА А.А. **О РЕАКЦИИ ТЕРМОЛИЗА 106**
ХЕЛЕРИТРИНА БИСУЛЬФАТА: КОМПЬЮТЕРНАЯ МОДЕЛЬ
- 26 ЦЫБУЛЬКО Н.С. **КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЛКАЛОИДОВ 108**
БЕРБЕРИНА И САНГВИНАРИНА В КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ
МАКЛЕЙ И ВАСИЛИСТНИКА.
- 27 ПИНЕЕВ С.А., СОКОЛЬСКАЯ Т.А., САВИНА А.А., ЕВСТРАТОВА Р.И. **ВЭЖХ 114**
В СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ
И ФИТОПРЕПАРАТОВ. 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ
ЭЛЕУТЕРОЗИДА В В СУХОМ ЭКСТРАКТЕ ЭЛЕУТЕРОКОККА
МЕТОДОМ МИКРОКОЛОНОЧНОЙ ВЭЖХ.
- 28 ПИНЕЕВ С.А., СОКОЛЬСКАЯ Т.А., САВИНА А.А., ЕВСТРАТОВА Р.И. **ВЭЖХ 121**
В СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ
И ФИТОПРЕПАРАТОВ. 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ
ЭЛЕУТЕРОЗИДА В В ТАБЛЕТКАХ ЭКСТРАКТА ЭЛЕУТЕРОКОККА
СУХОГО 0,1 Г МЕТОДОМ МИКРОКОЛОНОЧНОЙ ВЭЖХ.
- 29 ПИНЕЕВ С.А. **ВЭЖХ В СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО 124**
РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ФИТОПРЕПАРАТОВ. 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ
СОДЕРЖАНИЯ ГИНЗЕНОЗИДА R_{g1} В СУХОМ ЭКСТРАКТЕ ААІÜØАІÜ
МЕТОДОМ МИКРОКОЛОНОЧНОЙ ВЭЖХ.
- 30 БУРОВА А. Е., ДМИТРИЕВ М. Ю., ОХОТНИКОВА В. Ф., СОКОЛЬСКАЯ Т.А., 130
ПИНЕЕВ С.А. **МЕТОДЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ПРЕПАРАТА “ВИЛАРИН”**
- 31 ЗАПЕСОЧНАЯ Г.Г., БЫКОВ В.А. **КОМПЛЕКСНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ 136**
ПЕРЕРАБОТКИ СОЛОДКИ - GLUCYRRHIZA L.
- 32 ЗАПЕСОЧНАЯ Г.Г., КУРКИН В.А. **СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ 146**
ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ХИМИЧЕСКОЙ СТАНДАРТИЗАЦИИ
РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ФИТОПРЕПАРАТОВ
- 33 ЗАПЕСОЧНАЯ Г.Г., КУРКИН В.А., АВДЕЕВА Е. В. 149
ФЕНИЛПРОПАНОИДЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ: СОЗДАНИЕ
И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ФИТОПРЕПАРАТОВ
- 34 АНТОНОВА О.К., ЛИБИЗОВА Л.Ф., ВЕЧКАНОВА Л.Д. **КОМПЛЕКСНАЯ 157**
ПЕРЕРАБОТКА ПЛОДОВ АММИ БОЛЬШОЙ
- 35 АНТОНОВА О.К., ЛИБИЗОВА Л.Ф., ВЕЧКАНОВА Л.Д., ВАЛЬ Е.В. 159
ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ПЕРЕРАБОТКЕ
ПЛОДОВ ШИПОВНИКА
- 36 АНТОНОВА О.К., РЯБЦЕВА Н.В., ЛИБИЗОВА Л.Ф., ВЕЧКАНОВА Л.Д. 161
СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА
ФИТОХИМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ
- 37 АНТОНОВА О.К., ТОХТАБАЕВА Г.М., АНАНЬЕВА А.А., ЛИБИЗОВА Л.Ф., 162
ВЕЧКАНОВА Л.Д. **ИССЛЕДОВАНИЕ ПО УТОЧНЕНИЮ ПОКАЗАТЕЛЕЙ**
КАЧЕСТВА АЛЛАПИНИНА И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ
ПРОИЗВОДСТВА
- 38 БЕЛАЧЕУ И.А., ЛИБИЗОВА Л.Ф., РАМАННИКОВА Н.М., ИНКИНА Л.Е. 164

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИЙ ГРАНУЛЯЦИИ В ПСЕВДООЖИЖЕННОМ СЛОЕ НА ОСНОВЕ УПАРЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ.

- 39 Н. В. ШЕПЕЛЕВА, В. Ф. ОХОТНИКОВА. НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ГОТОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИЗ СУХИХ ЭКСТРАКТОВ. 168
- 40 БОКАРЕВА С. Ю., ЛИБИЗОВА Л. Ф., ЗВОНКОВА Е. Н., ВЕЧКАНОВА Л. Д., БЫКОВ В.А. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ГЛИКОЗИДОВ ИЗ НАПЕРСТЯНКИ ШЕРСТИСТОЙ 171
- 41 ВАЛЬ Е.В., ВЕЧКАНОВА Л.Д., АНТОНОВА О.К., КАНДЫБКА Н.Е. УПАКОВКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ИМИДЖ ПРЕДПРИЯТИЯ 174
- 42 ГРОМАКОВА А.И., БЫКОВ В.А., ГЛЫЗИН В.И., СОКОЛЬСКАЯ Т.А. , ТАРЕЕВА Н.В. КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД ПАТЕНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРЕПАРАТОВ ИЗ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ 175
- 43 ВАЛЬ Е.В. МОТИВАЦИЯ К ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОМУ ТРУДУ ЧЕРЕЗ ЭКОНОМИЧЕСКИЕ СТИМУЛЫ 179

РАЗДЕЛ 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И ФИТОПРЕПАРАТОВ

- 44 БЫКОВ В.А., КОЛХИР В.К., ВИЧКАНОВА С.А., СОКОЛЬСКАЯ Т.А., КРУТИКОВА Н.М. ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗРАБОТКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ 192
- 45 В.К.КОЛХИР, С.А.ВИЧКАНОВА, Н.М.КРУТИКОВА, Т.А.СОКОЛЬСКАЯ, Л.В.КРЕПКОВА, БОРТНИКОВА В.В. НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ДОКЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ 203
- 46 БЫКОВ В.А., МИНЕЕВА М.Ф., НАЙМЫТЕНКО Е.П., КОЛХИР В.К. СТРЕСС-ПРОТЕКТИВНЫЕ МНЕМОТРОПНЫЕ ПЕПТИДЫ ИЗ РАСТЕНИЙ 209
- 47 ТРУМПЕ Т.Е., КОЛХИР В.К., ОМЕЛЬНИЦКИЙ П.П., КУЗНЕЦОВ Ю.Б., КРЕПКОВА Л.В., БОРТНИКОВА В.В., ВИЧКАНОВА С.А., ШКАРЕНКОВ А.А., КОМОЛОВ И.С., АБРАМОВА В.В., КУЧЕРЯНУ В.Г., СОКОЛОВ С.Я. АБЕРГИН – НОВОЕ ОТЕЧЕСТВЕННОЕ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ 219
- 48 ВИЧКАНОВА С.А., ШИПУЛИНА Л.Д., ФАТЕЕВА Т.В., КОЛХИР В.К., БОРТНИКОВА В.В., КРЕПКОВА Л.В., КУЗНЕЦОВ Ю.Б., ГЛЫЗИН В.И., СМЕРНОВА Л.П., КРУТИКОВА Н.М. АЛПИЗАРИН – ЭФФЕКТИВНОЕ ПРОТИВОВИРУСНОЕ СРЕДСТВО, ВЫДЕЛЕННОЕ ИЗ РАСТЕНИЙ РОДА *FABACEAE* И *ANACARDIACEAE* 229
- 49 КОЛХИР В.К., СОКОЛЬСКАЯ Т.А., ВИЧКАНОВА С.А., КРУТИКОВА Н.М., МИНЕЕВА М.Ф., КРЕПКОВА Л.В., ГЛАЗОВА Н.Г., БАГИНСКАЯ А.И., ШИПУЛИНА Л.Д., ФАТЕЕВА Т.Н., ТРУМПЕ Т.Е., ОМЕЛЬНИЦКИЙ П.П., БОРТНИКОВА В.В., ШКАРЕНКОВ А.А., КИРЬЯНОВ А.А., ПИНЕЕВ С.А. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНАЯ ДОБАВКА ВИЛАРИН – НОВАЯ ОРИГИНАЛЬНАЯ РАЗРАБОТКА ВИЛАРА 240
- 50 ШИПУЛИНА Л.Д. ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ И ДРУГИХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГИПОРАМИНА - НОВОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА 251
- 51 ВИЧКАНОВА С.А., КРУТИКОВА Н.М. ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГИПОРАМИНА ПРИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ 265
- 52 ШИПУЛИНА Л.Д., ЛЕНЕВА И.А., ФЕДЯКИНА И.Т. К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ ГИПОРАМИНА 276
- 53 ШИПУЛИНА Л.Д., ЛЕНЕВА И.А., ФЕДЯКИНА И.Т. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ГИПОРАМИНА 285

	МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА В ОТНОШЕНИИ РЕСПИРАТОРНО- СИНЦИТИАЛЬНОГО ВИРУСА	
54	КОЛХИР В.К., ОМЕЛЬНИЦКИЙ П.П., САКОВИЧ Г.С., ГЛАЗОВА Н.Г., АЛИБЕКОВ С.Д., ШКАРЕНКОВ А.А., СОКОЛЬСКАЯ Т.А., ВИЧКАНОВА С.А., ЗВОНКОВА Е.Н., ПИНЕЕВ С.А., КУЗНЕЦОВ Ю.Б. КРУТИКОВА Н.М. ДИГИДРОЭРГОКРИСТИН – АЛЬФА-АДРЕНОЛИТИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НАРУШЕНИЙ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ	290
55	КОЛХИР В.К., МАЙНСКОВ А.В., САКОВИЧ Г.С., ЛЕСКОВА Т.Е., БАГИНСКАЯ А.И., МИНЕЕВА М.Ф., ОМЕЛЬНИЦКИЙ П.П., ВИЧКАНОВА С.А. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КАСМИНА – НОВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО АНТИТРОМБОТИЧЕСКОГО СБОРА	302
56	БАГИНСКАЯ А.И., КОЛХИР В.К., ШКАРЕНКОВ А.А., ГОРОДНЮК Т.Н., ГЛАЗОВА Н.Г., ЛЕСКОВА Т.Е., КРЕПКОВА Л.В., БОРТНИКОВА В.В., ВИЧКАНОВА С.А., КРУТИКОВА Н.М. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ	312
57	БАГИНСКАЯ А.И., КОЛХИР В.К., ЛЕСКОВА Т.Е., ГОРОДНЮК Т.Н., СОКОЛОВ С.Я., РЫБАЛКО К.С. РОТОКАН – ПРЕПАРАТ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО И РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ.	324
58	ВИЧКАНОВА С.А., КОЛХИР В.К., КРУТИКОВА Н.М., АДГИНА В.В., ФАТЕЕВА Т.В., СОКОЛЬСКАЯ Т.А. САНГВИРИТРИН – ПРЕДСТАВИТЕЛЬ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ	333
59	БАГИНСКАЯ А.И., КОЛХИР В.К., ГОРОДНЮК Т.И. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТАНАЦЕХОЛА НА НЕКОТОРЫЕ ПАРАМЕТРЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС	344
60	ВИЧКАНОВА С.А., БАГИНСКАЯ А.И., ШИПУЛИНА Л.Д., КОЛХИР В.К. БОРТНИКОВА В.В., ГОРОДНЮК Т.И. ФЛАКОЗИД – ЭФФЕКТИВНОЕ РАСТИТЕЛЬНОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕПАТИТОВ ВИРУСНОЙ И НЕ ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ, А ТАКЖЕ ВИРУСНЫХ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ	351
61	ШИПУЛИНА Л.Д. ВИЧКАНОВА С.А. ИЗУЧЕНИЕ ХЕЛЕПИНА Д ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОФТАЛЬМОГЕРПЕСЕ	360
62	ВИЧКАНОВА С.А., ШИПУЛИНА Л.Д. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХЕЛЕПИНА Д ПРИ ЛЕЧЕНИИ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ И АДЕНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ГЛАЗ	367
63	КРУТИКОВА Н.М., ВИЧКАНОВА С.А. ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭВКАЛИМИНА В СВЕТЕ СОВРЕМЕННОГО ПОДХОДА К ПРЕПАРАТАМ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ	377
64	ВИЧКАНОВА С.А., КРУТИКОВА Н.М. КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭВКАЛИМИНА В КАЧЕСТВЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА ОБЩЕРЕЗОРБТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ	388
65	САКОВИЧ Г.С., КОЛХИР В.К., ЕНЮТИНА Е.Ю., ШКАРЕНКОВ А.А., СТИХИН В.А., АЛИБЕКОВ С.Д., ОМЕЛЬНИЦКИЙ П.П., БАГИНСКАЯ А.И., СЕНИНА Т.А., ТРУМПЕ Т.Е., БОРОВКОВА М.В., ГЛАЗОВА Н.Г., ЛЕСКОВА Т.Е. РАЗРАБОТКА ЭСТИФАНА, ПРЕПАРАТА ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ИЗ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ.	401
66	БОРТНИКОВА В.В., КРЕПКОВА Л.В., АРЗАМАСЦЕВ Е.В., КУЗНЕЦОВ Ю.Б.,	414

**БОРОВКОВА М.В. ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА
НЕКОТОРЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ И
ПРОТИВОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ**

67 **ВЫБОРНОВА О.В., ВОЛНУХИН В.А., ГРЕБЕНЮК В.Н., ГРИНЕНКО Н.А. 421
ПРИМЕНЕНИЕ АММИФУРИНА В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ
ОГРАНИЧЕННОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ**